



**Miguel Rodrigues Ferreira**

Licenciado em Engenharia do Ambiente

## **Produção de novas culturas na Europa para Bioenergia em solos marginais**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de  
Energias Renováveis

Orientador: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,  
Professora Associada, Faculdade de Ciências e Tecnologia  
da Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Doutor Mário Ventim Neves; Professor Auxiliar;  
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de  
Lisboa

Júri:

Presidente: Doutor Pedro Miguel Ribeiro Pereira - FCT/UNL

Arguente: Doutora Catarina Pereira Nobre - FCT/UNL

Vogal: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando - FCT/UNL



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Setembro de 2019**

**Miguel Rodrigues Ferreira**

Licenciado em Engenharia do Ambiente

**Produção de novas culturas na Europa  
para Bioenergia em solos marginais**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de  
Energias Renováveis

Orientador: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,  
Professora Associada, Faculdade de Ciências e Tecnologia  
da Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Doutor Mário Ventim Neves; Professor Auxiliar;  
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de  
Lisboa

Júri:

Presidente: Doutor Pedro Miguel Ribeiro Pereira - FCT/UNL

Arguente: Doutora Catarina Pereira Nobre - FCT/UNL

Vogal: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando - FCT/UNL

**Setembro 2019**

“Produção de novas culturas na Europa para Bioenergia em solos marginais.” © Miguel Rodrigues Ferreira, FCT/UNL, UNL.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Luísa Fernando pela orientação e oportunidade de integrar este projeto.

Ao Leandro Gomes por todo o acompanhamento nas atividades, pela paciência, e acima de tudo por estar sempre presente para ajudar no que fosse preciso.

Ao Jorge Costa por também ter manifestado sempre a sua disponibilidade para ajudar.

A todos os colaboradores do laboratório, pelo apoio proporcionado no trabalho experimental.

Aos meus colegas de laboratório, Marcelo, Francesco, Caia, e Carina, que partilharam comigo muitas horas de trabalho, e que ajudaram a criar sempre um ambiente de boa disposição que permitiu passar mais facilmente pelos dias em que as coisas não corriam tão bem.

À Carina, mais uma vez, por ser a amiga que está sempre presente, nos bons e maus momentos, uma pessoa em que confio e irei confiar sempre. Sabes que sem ti este período teria sido muito mais complicado. Obrigado.

Aos colegas de curso que durante estes dois anos tive o prazer conhecer e conviver, em particular para aqueles com quem partilhei estes últimos meses na realização deste projeto.

A todos os amigos e familiares que contribuíram de alguma forma para que pudesse concluir esta etapa. Não quero ser injusto com ninguém e por isso não vou referir nomes para não arriscar esquecer-me de alguém, tenho a certeza de que estas pessoas sabem o quanto reconheço a sua amizade.

Às pessoas que permitiram estar a concluir esta fase, os meus pais. Por todos os sacrifícios, e por todo o amor. Por desde cedo terem criado as condições para que aqui estivesse hoje. Pai, sei que estás orgulhoso, estejas onde estiveres, infelizmente não pudeste acompanhar grande parte do meu crescimento, mas estás sempre presente. Mãe, um agradecimento especial para ti, por tudo o que representas e por me teres sabido orientar.



## Resumo

As culturas energéticas constituem uma alternativa para complementar o fornecimento de energia. Devido a limitações na disponibilidade de solo cultivável, deve ser explorada a hipótese de introdução deste tipo de culturas em solos marginais, como é o caso de solos contaminados com metais pesados. Adicionalmente, algumas culturas têm a capacidade de remover os metais pesados, potenciando uma remediação do solo. Neste contexto, este estudo teve como objetivos avaliar os efeitos de solos contaminados com zinco ou chumbo na produtividade e qualidade da biomassa das culturas oleaginosas, *Thlaspi arvense* L. e *Brassica carinata* A. Braun, assim como a avaliação do potencial fitorremediador destas culturas. Este ensaio foi realizado em vasos, recorrendo à contaminação artificial dos solos com zinco (450/900 mg.kg<sup>-1</sup>) ou chumbo (450/900 mg.kg<sup>-1</sup>). Foram observadas maiores produtividades na *B. carinata* que na *T. arvense*, sendo que a produtividade da *T. arvense* foi significativamente afetada por ambos os metais. A *B. carinata* pode ser encarada como tolerante à contaminação com os metais pesados em estudo, especialmente para o chumbo, contrastando com a baixa tolerância exibida pela *T. arvense*. Verificou-se que a *B. carinata* apresentou uma maior aptidão para acumular o zinco nas frações aéreas, especialmente caules e folhas, enquanto a *T. arvense* manifestou maior capacidade acumuladora nas raízes. A *B. carinata* demonstrou capacidade translocar o zinco para as frações aéreas, apresentando um maior potencial de fitoextração que a *T. arvense*. Nos ensaios contaminados com chumbo a *B. carinata* e a *T. arvense* apresentaram uma baixa capacidade de acumular chumbo nas frações aéreas. Estas culturas exibiram capacidades para acumular chumbo nas suas raízes, principalmente a *T. arvense*. Relativamente à capacidade de translocar o chumbo para as frações aéreas, ambas as culturas apresentaram limitações, verificando-se assim uma baixa translocação deste metal.

**Palavras-chave:** *Brassica carinata*; *Thlaspi arvense*; solos contaminados; zinco; chumbo; fitorremediação.





## Abstract

Energy crops provide an alternative to complement the energy supply. Due to limitations in the availability of arable land, the hypothesis of introducing such crops on marginal soils, such as contaminated soils with heavy metals, should be explored. In addition, some crops have the capacity to remove heavy metals, potentiating soil remediation. In this context, this study aimed to assess the effects of soils contaminated with zinc or lead on the productivity and quality of biomass of oil crops, *Thlaspi arvense* L. and *Brassica carinata* A. Braun, as well as the assessment of the phytoremediation potential of these crops. This trial was conducted in pots using artificial soil contamination with zinc (450/900 mg.kg<sup>-1</sup>) or lead (450/900 mg.kg<sup>-1</sup>). Higher productivities were observed in *B. carinata* than in *T. arvense*, and the productivity of *T. arvense* was significantly affected by both metals. *B. carinata* can be considered tolerant to contamination with heavy metals under study, especially for lead, contrasting with the low tolerance displayed by *T. arvense*. It was found that *B. carinata* showed a greater ability to accumulate zinc in the aerial fractions, especially stems and leaves, while *T. arvense* showed greater accumulation capacity in the roots. *B. carinata* demonstrated the ability to translocate the zinc into the aerial fractions, exhibiting a greater potential for phytoextraction than *T. arvense*. In lead contaminated trials, *B. carinata* and *T. arvense* showed a low capacity to accumulate lead in the aerial fractions. These crops can accumulate lead in their roots, especially *T. arvense*. Both crops had limitations in their ability to translocate lead into aerial fractions, thus resulting in a low translocation of this metal.

**Keywords:** *Brassica carinata*; *Thlaspi arvense*; contaminated soils; zinc; lead; phytoremediation.



## Índice geral

1. Introdução .....	1
1.1. Culturas energéticas.....	1
1.1.1. Definições .....	1
1.1.2. Caracterização da <i>Thlaspi arvense</i> L.....	2
1.1.3. Caracterização da <i>Brassica carinata</i> A. Braun.....	8
1.2. Produção de culturas energéticas em solos contaminados com metais pesados.....	11
1.2.1. Solos marginais- diferentes definições e abordagens a este conceito .....	11
1.2.2. Solos contaminados com metais pesados .....	12
1.2.2.1. Presença de zinco no solo .....	17
1.2.2.2. Presença de chumbo no solo .....	18
1.2.3. Fitorremediação de solos contaminados com metais pesados .....	19
1.2.4. Produção de culturas energéticas em solos com metais pesados. Consequências e oportunidades.....	24
1.3. Objetivos do trabalho.....	24
2. Materiais e métodos .....	27
2.1. Metodologia aplicada à caracterização da biomassa .....	28
2.2. Metodologia aplicada à caracterização do solo .....	32
3. Resultados e discussão .....	33
3.1. Caracterização do solo .....	33
3.2. Caracterização da biomassa .....	33
3.2.1. Parâmetros biométricos.....	33
3.2.2. Produtividade.....	34
3.2.3. Parâmetros químicos.....	40
3.2.3.1. Teor de cinzas .....	40
3.2.3.2. Teor de azoto.....	44
3.2.3.3. Teor de fósforo .....	47
3.2.4. Metais .....	50
3.2.4.1. Zinco .....	50
3.2.4.2. Chumbo .....	55
3.3. Impacto económico na produção de biodiesel .....	60
4. Conclusões.....	65

Referências .....	67
-------------------	----

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1:</b> Desenvolvimento inicial da <i>T. arvense</i> na forma de roseta. ....	3
<b>Figura 1.2:</b> <i>T. arvense</i> na fase de floração. ....	4
<b>Figura 1.3:</b> Silículas da <i>T. arvense</i> . ....	4
<b>Figura 1.4:</b> <i>B. carinata</i> numa fase inicial de crescimento (à esquerda) e no início da floração (à direita). .....	9
<b>Figura 1.5:</b> Siliques da <i>B. carinata</i> . ....	10
<b>Figura 2.1:</b> Esquema simplificado da montagem dos ensaios. ....	27
<b>Figura 2.2:</b> Local onde feita a montagem dos ensaios, mais precisamente a varanda do 1º piso do Edifício Departamental, do campus da FCT/UNL. ....	28
<b>Figura 2.3:</b> Separação das diferentes componentes da <i>B. carinata</i> (à esquerda) e <i>T. arvense</i> (à direita). .....	29
<b>Figura 2.4:</b> Introdução da biomassa fresca na estufa ..... 30	30
<b>Figura 2.5:</b> Identificação e armazenamento da biomassa ..... 30	30
<b>Figura 3.1:</b> Produtividade média ( $\text{g.m}^{-2}$ ) dos caules da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	35
<b>Figura 3.2:</b> Produtividade média ( $\text{g.m}^{-2}$ ) das folhas da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	36
<b>Figura 3.3:</b> Produtividade média ( $\text{g.m}^{-2}$ ) das vagens da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	37
<b>Figura 3.4:</b> Produtividade média ( $\text{g.m}^{-2}$ ) da biomassa aérea total da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação de zinco e chumbo. ....	38
<b>Figura 3.5:</b> Produtividade média ( $\text{g.m}^{-2}$ ) das raízes da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação de zinco e chumbo. ....	39
<b>Figura 3.6:</b> Teor de cinzas dos caules (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	41
<b>Figura 3.7:</b> Teor de cinzas das folhas (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	42
<b>Figura 3.8:</b> Teor de cinzas das vagens (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	43
<b>Figura 3.9:</b> Teor de cinzas das raízes (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	44
<b>Figura 3.10:</b> Teor de azoto nos caules (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	45
<b>Figura 3.11:</b> Teor de azoto nas folhas (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	46
<b>Figura 3.12:</b> Teor de azoto nas vagens (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	47
<b>Figura 3.13:</b> Teor de fósforo nos caules (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	48

<b>Figura 3.14:</b> Teor de fósforo nas folhas (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	49
<b>Figura 3.15:</b> Teor de fósforo nas vagens (% matéria seca) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo. ....	50
<b>Figura 3.16:</b> Concentração média de zinco (mg Zn.kg <sup>-1</sup> ) nos caules da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com Zn. ....	51
<b>Figura 3.17:</b> Concentração média de zinco (mg Zn.kg <sup>-1</sup> ) nas folhas da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com Zn. ....	52
<b>Figura 3.18:</b> Concentração média de zinco (mg Zn.kg <sup>-1</sup> ) nas vagens da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com Zn. ....	53
<b>Figura 3.19:</b> Concentração média de zinco (mg Zn.kg <sup>-1</sup> ) nas raízes da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com Zn. ....	54
<b>Figura 3.20:</b> Concentração média de chumbo (mg Pb.kg <sup>-1</sup> ) nos caules da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com Pb. ....	56
<b>Figura 3.21:</b> Concentração média de chumbo (mg Pb.kg <sup>-1</sup> ) nas folhas da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com Pb. ....	57
<b>Figura 3.22:</b> Concentração média de chumbo (mg Pb.kg <sup>-1</sup> ) nas vagens da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com Pb. ....	58
<b>Figura 3.23:</b> Concentração média de chumbo (mg Pb.kg <sup>-1</sup> ) nas raízes da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com Pb. ....	58
<b>Figura 3.24:</b> Custo de produção de biodiesel (€/L) a partir da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> para cada nível de contaminação com zinco e chumbo .....	63

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.1:</b> Características do biodiesel obtido através da <i>T. arvense</i> em comparação com as normas europeia e americana (Moser et al., 2009a). .....	7
<b>Tabela 1.2:</b> Diferentes fontes de metais pesados (Lone et al., 2008) .....	15
<b>Tabela 1.3:</b> Efeitos prejudiciais de alguns metais pesados na saúde humana (Ayangbenro & Babalola, 2017).....	16
<b>Tabela 2.1:</b> Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química das plantas .....	31
<b>Tabela 2.2:</b> Métodos analíticos utilizados na caracterização do solo .....	32
<b>Tabela 3.1:</b> Caracterização inicial do solo utilizado nos ensaios .....	33
<b>Tabela 3.2:</b> Parâmetros biométricos obtidos para a <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> nos ensaios da contaminados com zinco ou chumbo. ....	34
<b>Tabela 3.3:</b> Índice de tolerância (IT) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> nos ensaios contaminados com zinco ou chumbo.....	39
<b>Tabela 3.4:</b> Índice de acumulação (IA) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> em solos contaminados com zinco.....	54
<b>Tabela 3.5:</b> Fator de translocação (FT) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> em solos contaminados com zinco.....	55
<b>Tabela 3.6:</b> Índice de acumulação (IA) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> em solos contaminados com chumbo. ....	59
<b>Tabela 3.7:</b> Fator de translocação (FT) da <i>Brassica carinata</i> e <i>Thlaspi arvense</i> em solos contaminados com chumbo. ....	59





## **1. Introdução**

O panorama energético global tem estado fortemente dependente da exploração de combustíveis fósseis, tais como petróleo, carvão e gás natural. A utilização intensiva destes recursos, não renováveis e finitos, como principal modelo de crescimento social e económico conduziu a graves problemas ambientais, visto que, esta utilização está associada a emissões de gases com efeito de estufa e outros poluentes.

No seguimento das últimas décadas, espera-se que o crescimento populacional continue a evoluir exponencialmente, esperando-se maior dificuldade para satisfazer todas as necessidades energéticas, acentuando ainda mais as questões de sustentabilidade. Desta forma, é essencial procurar atingir uma diversificação das fontes de energia, permitindo fortalecer a segurança energética e preservação ambiental.

As culturas energéticas, renováveis, surgem como uma alternativa para complementar o fornecimento de produtos energéticos.

Contudo, o interesse crescente pela utilização de culturas energéticas pode causar conflitos entre a preferência de exploração do solo agrícola para produção de alimentos ou de energia, podendo influenciar negativamente os preços dos bens alimentares. Assim, é fundamental uma contínua investigação nesta área, de modo a identificar as culturas energéticas que sejam economicamente viáveis e que não interfiram com a produção alimentar.

É também importante salientar que a disponibilidade de solo cultivável está a tornar-se cada vez mais limitada, logo é essencial que as culturas alimentares tenham prioridade neste tipo de terreno. Deste modo, deve-se procurar inserir as culturas energéticas em solos marginais, ou seja, terrenos onde não é possível cultivar alimentos devido às suas condições e características. Esta impossibilidade pode dever-se, por exemplo, a uma carência de nutrientes, à qualidade do solo ou à presença de substâncias poluentes, como é o caso dos metais pesados.

Assim, a introdução das culturas energéticas neste tipo de solos está dependente das capacidades de adaptação e tolerância das culturas a este tipo de condições adversas. Adicionalmente, algumas espécies poderão possuir aptidões que permitam uma remediação dos solos degradados.

### **1.1. Culturas energéticas**

#### **1.1.1. Definições**

O interesse da comunidade científica pelas culturas energéticas surge na necessidade de diversificar as fontes de energia de origem renovável. Esta vertente surge como uma das alternativas, contribuindo assim para a transição energética que deve ser efetuada a nível global, de forma a assegurar um sistema energético menos dependente dos combustíveis fósseis.

A sua utilização consiste no cultivo de espécies de plantas anuais ou perenes especificamente para a produção de alguma forma de energia. Tendo em conta o principal tipo de matéria-prima que fornecem para conversão, estas culturas podem ser classificadas em três grupos principais:

- **Culturas glucídicas:** caracterizadas por um elevado teor de açúcares, permitindo a produção de bioetanol.
- **Culturas lenhocelulósicas:** constituídas essencialmente por fibras de celulose, hemicelulose e lenhina, com diversas aplicações energéticas devido à sua elevada produção de matéria seca.
- **Culturas oleaginosas:** caracterizadas pela presença de altos teores de óleo vegetal, o qual pode ser usado como combustível na produção de calor e eletricidade ou como fonte para a produção de biodiesel, depois de refinado.

A introdução de culturas energéticas em solo agrícola ou florestal deve ser acompanhada pelo estabelecimento de metodologias padronizadas. Esta aplicação de ser feita de forma a garantir uma integração sustentável em termos ambientais e ecológicos no local de produção, maximizando o rendimento das culturas em termos energéticos e evitando possíveis impactos negativos associados a este tipo de exploração (El Bassam, 2010).

Uma espécie pode ser classificada como cultura energética apenas quando reúne um conjunto considerável de certos requisitos e características ideais para esta apreciação. Assim, alguns destes critérios são (Boléo, 2011; McKendry, 2002):

- ✓ elevado rendimento (produção máxima de matéria seca por hectare);
- ✓ baixa necessidade energética de produção;
- ✓ custo económico reduzido;
- ✓ reduzida necessidade de nutrientes;
- ✓ resistência a pestes, doenças e secas;
- ✓ facilidade de introdução em rotações agrícolas pré-existentes;
- ✓ elevada densidade energética das plantas ( $\text{MJ.kg}^{-1}$ );
- ✓ eficiência no uso da água;
- ✓ adaptação às condições climáticas do local;
- ✓ facilidade de colheita e armazenamento;

### 1.1.2. Caracterização da *Thlaspi arvense* L

A *Thlaspi arvense* L. também conhecida por *pennycress* ou *stinkweed*, é uma cultura oleaginosa anual, pertencente à família *Brassicaceae*, relacionando-se com um grande número de espécies, tais como a *Brassica napus*, *Brassica rapa*, *Camelina sativa*, *Brassica oleracea* e *Arabidopsis thaliana* (Sedbrook et al., 2014).

A *pennycress* é uma espécie diploide ( $2n=14$ ) e autógama, conseguindo exibir hábitos de uma cultura de inverno ou primavera-verão (Dorn et al., 2018; Warwick et al., 2002).

É frequentemente qualificada como uma persistente praga agrícola, competindo fortemente com as culturas por água, espaço e nutrientes, podendo ser encontrada numa grande variedade de *habitats*,

incluindo terras agrícolas, campos de pousio, jardins, pastagens, bermas de estrada e zonas de solo perturbado (Best & McIntyre, 1975; Holm et al., 1997; Mitich, 1996).

Por outro lado, tem sido proposta como uma cultura energética com diversas aplicações industriais, podendo também servir para um ciclo de rotação verão/inverno com culturas convencionais, devido ao seu curto ciclo de vida, não implicando assim, o deslocamento da produção agrícola existente no local (Dorn et al., 2018; Moser et al., 2009b; Sedbrook et al., 2014; Thomas et al., 2017).

É oriunda da Europa e Ásia mas apresenta uma extensa distribuição pelo mundo, encontrando-se naturalizada nas regiões temperadas da América do Norte e Europa, bem como no hemisfério sul, incluindo América do Sul, Austrália e Nova Zelândia (Warwick et al., 2002).

O facto de estar fortemente difundida evidencia uma adaptação a uma ampla variedade de condições climáticas, sendo tolerante ao frio extremo. O seu crescimento é feito com sucesso em habitats secos ou húmidos, e numa grande variedade de tipo de solos, mas preferindo locais férteis. Está presente em altitudes que podem variar desde o nível do mar e superar os 3 000 metros (Best & McIntyre, 1975; Holm et al., 1997; Mitich, 1996).

O desenvolvimento inicial dá-se na forma de roseta basal e compacta (Figura 1.1), a qual é essencial na passagem do inverno, visto que, protege a planta das baixas temperaturas e ventos (Best & McIntyre, 1975).



**Figura 1.1:** Desenvolvimento inicial da *T. arvense* na forma de roseta.

A morfologia da planta pode diferir bastante em diferentes tipos de solo. Em solo seco, pouco profundo e infértil a planta pode não ser ramificada e atingir apenas 1 centímetro de altura. Em solos profundos e férteis, e com relativa ausência de competição, são formados ramos laterais floridos, produzidas gemas nos nós basais e o caule pode atingir os 80 centímetros de altura, sendo simples ou ramificado na parte superior (Best & McIntyre, 1975).

Quanto à disposição das folhas sobre o caule, a inserção das folhas é alterna, ou seja, existe uma folha em cada nó. As folhas basais caem na maturação, sendo glabras, simples, obovadas e pecioladas, ou seja, têm pecíolo mas não têm bainha. As folhas situadas na parte média e superior da planta são

glabras, simples, oblongas, têm margens inteiras ou ligeiramente dentadas e são sésseis, isto é, não possuem bainha nem pecíolo (Best & McIntyre, 1975; Holm et al., 1997).

As flores são brancas e regulares, sendo que o tipo de inflorescência é em racemo. Cada flor é constituída por 4 sépalas verdes, 4 pétalas brancas e 6 estames, 2 deles menores que os restantes 4 (Best & McIntyre, 1975). Na Figura 1.2 é apresentada a planta na fase de floração.



**Figura 1.2:** *T. arvense* na fase de floração.

O fruto é a silícula (Figura 1.3), sendo verde brilhante, podendo assumir um tom mais amarelado numa fase mais avançada da maturação. As silículas ou cápsulas de semente são compactas e de forma quase circular, sendo constituídas por 2 lóculos, cada um com 5 a 8 sementes (Best & McIntyre, 1975; Holm et al., 1997).



**Figura 1.3:** Silículas da *T. arvense*.

As sementes têm uma cor que pode variar entre um castanho-avermelhado e o preto, assumindo uma forma ovoide, com 1,2 a 2,3 milímetros de comprimento e 1 a 1,5 milímetros de largura. O peso de uma semente pode variar entre 0,8 e 2,39 miligrama (Best & McIntyre, 1975; Sedbrook et al., 2014).

No que se refere à viabilidade das sementes, comprovou-se que esta é significativamente maior no solo, tendo em conta que as sementes secas armazenadas perdem a sua viabilidade no prazo de dois anos, enquanto que, quando enterradas no solo continuam vivas após dez anos. Mesmo depois de vinte anos algumas sementes podem ter capacidade para germinar. Contudo, o tempo de dormência da maioria destas sementes em solo cultivado não ultrapassa os seis anos (Mitich, 1996).

A germinação de sementes é máxima a uma temperatura de 10-25 °C e com exposição à luz. Contudo, neste intervalo de temperatura e na ausência de luminosidade a germinação é muito reduzida (Best & McIntyre, 1975).

A persistência do seu conjunto de sementes, a produção prolífica destas, a capacidade de germinar quando trazidas à superfície pelo cultivo, existência de diferentes variações genéticas com tempos de germinação e frutificação variáveis, um sistema de enraizamento extenso e a capacidade de sobrevivência das sementes no solo durante vários anos contribuem para o sucesso da *T. arvense* como uma erva agrícola. Este conjunto de fatores oferece uma vantagem competitiva a esta espécie, podendo causar sérias perdas de rendimento noutras culturas. Neste conjunto de culturas que sofrem perdas de produção e rendimento devido à presença da *pennycress*, incluem-se, por exemplo, a *B. napus*, *B. rapa*, *T. aestivum* e *C. tinctorius* (Holm et al., 1997; Warwick et al., 2002).

Além da diminuição do rendimento das produções agrícolas, a *pennycress* pode também afetar negativamente a qualidade das culturas. Os níveis altos de ácido erúico no óleo da semente, assim como glucosinolatos nas sementes e tecidos vegetais podem levar à contaminação do óleo de canola e efeitos tóxicos em rações e forragem. No que se refere à contaminação devido ao ácido linoleico, apesar de apresentar normalmente valores reduzidos na *T. arvense*, a contaminação pode ser um problema para óleos especializados que requerem uma concentração igual ou inferior a 3% (Sedbrook et al., 2014; Warwick et al., 2002).

Como resultado do alto teor em glucosinolatos as sementes não podem ser diretamente introduzidas na ração animal. Caso ocorra a ingestão sem o tratamento prévio, poderão ser observados graves problemas na saúde dos animais, tais como aborto, cólicas, descamação da pele ou, no pior dos casos, a morte (Mitich, 1996; Warwick et al., 2002).

Um dos benefícios da *T. arvense* é facto de apresentar excelente potencial agronómico como cultura oleaginosa para uso industrial. Algumas vantagens associadas à *T. arvense* incluem a sua tolerância a terrenos não adequados para agricultura, necessidade mínima de recursos agrícolas (pesticidas, fertilizante, água), capacidade de servir para ciclos de rotação de culturas, não faz parte da cadeia alimentar, compatibilidade com a infraestrutura agrícola existente e as suas sementes apresentam um elevado teor de óleo (Moser et al., 2009a).

O teor e a composição do óleo das sementes da *pennycress* podem diferir consoante a variabilidade intraespecífica da espécie e as condições climáticas em que está inserida. Geralmente o teor em óleo situa-se num intervalo de 20-36% em massa. Cerca de 5% dos ácidos gordos presentes na *T. arvense* são saturados, enquanto que 56% contém uma dupla ligação (monoinsaturados) e 38% possuem duas ou três duplas ligações (polinsaturados). A composição de ácidos gordos no óleo inclui aproximadamente: 3,1% palmítico, 11,1% oleico, 22,4% linoleico, 11,8% linolénico, 32,8% erúcido, 8,6% gondoico, 2,9% nervónico (Moser, 2012; Moser et al., 2009b).

Cada planta pode produzir entre 1600 e 15 000 sementes, sendo que um terreno fortemente infestado pela *pennycress* pode render 1345 kg/ha de sementes (Best & McIntyre, 1975). Resultados mais recentes indicam que o rendimento de populações está na faixa de 1120-2240 kg de sementes/ha, o que equivale a cerca de 224-806 kg de óleo/ha, ou de outra forma, 600-1200 L de óleo/ha (Moser, 2012).

Na avaliação realizada para avaliar o potencial da *T. arvense* como fonte de matéria-prima para produção biodiesel, os resultados indicaram que o biodiesel que se pode produzir a partir do óleo extraído das sementes de *pennycress* revela-se um substituto aceitável para o diesel derivado do petróleo, comparando-se favoravelmente com a maioria das especificações do biodiesel estabelecidas na norma europeia (EN 14214) e norma americana (ASTM D6751) (Moser et al., 2009a). Esta comparação é evidenciada na Tabela 1.1.

**Tabela 1.1:** Características do biodiesel obtido através da *T. arvense* em comparação com as normas europeia e americana (Moser et al., 2009a).

Característica	Unidade	ASTM D6751	EN14214	Biodiesel- <i>T. arvense</i>
Índice de acidez	mg KOH/g	0,5 máx	0,5 máx	0,04
Glicerina livre	% massa	0,020 máx	0,020 máx	0,005
Glicerina total	% massa	0,240 máx	0,250 máx	0,041
Ponto de turvação (cloud point)	°C	-	-	-10
Ponto de fluidez (pour point- PP)	°C	-	-	-18
Temperatura limite de filtrabilidade	°C	-	Depende da região e altura do ano	-17
Estabilidade à oxidação a 110 °C	h	3 min	3 min	4,4
Viscosidade cinemática a -10 °C	mm <sup>2</sup> /s	-	-	35,52
Viscosidade cinemática a 0 °C	mm <sup>2</sup> /s	-	-	16,70
Viscosidade cinemática a 20 °C	mm <sup>2</sup> /s	-	-	8,65
Viscosidade cinemática a 40 °C	mm <sup>2</sup> /s	1,9-6,0	3,5-5,0	5,24
Enxofre	ppm	15 máx	10 máx	7
Fósforo	% massa	0,001 máx	0,001 máx	0,0000
Tensão superficial a 24 °C	mN/m	-	-	31,0
Tensão superficial a 40 °C		-	-	29,6
Número de cetano	-	47 min	51 min	59,8

Na última década, o óleo desta oleaginosa, devido ao alto teor de ácidos gordos monoinsaturados, atraiu crescente interesse como matéria-prima para a produção combustível de aviação nos EUA (Fan et al., 2013).

A *pennycress* pode também ser considerada uma planta com possíveis usos alimentares, sendo utilizada em diversos locais do mundo e frequentemente cultivada na Europa. Os seus rebentos podem ser utilizados crus em saladas ou cozinhados, contendo altos teores de vitamina C e B2 e enxofre (Mitich, 1996). Na China, as sementes da *pennycress* são usadas para tratar doenças oculares (Warwick et al., 2002). A sua utilização como uma cultura de cobertura pode contribuir para a redução da erosão do solo e diminuição da perda de nutrientes (Dorn et al., 2018).

### 1.1.3. Caracterização da *Brassica carinata* A. Braun

A cultura oleaginosa anual *Brassica carinata* A. Braun é também conhecida por “Abyssinian cabbage”, “Abyssinian mustard” ou “Ethiopian mustard” e pertence à família *Brassicaceae*, que inclui outras culturas oleaginosas economicamente importantes, tais como a *B. juncea*, a *B. napus*, a *B. nigra* e a *B. rapa* (Basili & Rossi, 2018; Rahman et al., 2018).

A *B. carinata* ( $2n=34$ ) é uma espécie anfidiplóide derivada de um cruzamento interespecífico entre duas espécies diploides, a *B. nigra* ( $2n=16$ ) e *B. oleracea* ( $2n=18$ ) (Rahman et al., 2018).

A polinização de muitas espécies que pertencem à família *Brassicaceae* é cruzada, contribuindo assim para a sua grande diversidade. Contudo, embora a *B. carinata* possa também possuir polinização cruzada, esta reproduz-se muito eficientemente por autopolinização (Mnzava & Schippers, 2007).

A origem mais provável da *B. carinata* é a Etiópia, assim como em regiões junto à África Oriental e costa do Mediterrâneo, onde as duas espécies que a originaram (*B. nigra* e *B. oleracea*) estavam presentes. Contudo a sua distribuição nativa não é totalmente precisa, tendo em conta que tem sido cultivada desde há bastante tempo em África, sendo frequentemente confundida com a *B. juncea* (Alemayehu & Becker, 2002; USDA, 2014).

A sua presença verifica-se em todos os continentes. O interesse pelo cultivo da *B. carinata* teve um aumento no sul da Europa, Austrália e Índia. Contudo, o cultivo comercial permanece principalmente limitado à Etiópia e alguns países geograficamente próximos, ocorrendo normalmente em terrenos pouco extensos. A espécie foi também alvo de investigações em diversos países de forma a avaliar o seu potencial para produção de biocombustível, tendo sido introduzida para este objetivo no Canadá, Índia, Itália, Paquistão, Espanha, Austrália e Estados Unidos (Falk et al., 2014; USDA, 2014; Warwick et al., 2006).

Esta cultura oleaginosa mostra uma boa adaptação às condições climáticas observadas na Etiópia, caracterizadas por uma temperatura de 14 a 18 °C, ambiente húmido com 600 a 900 milímetros de precipitação anual, altitudes entre 2200 e 2800 metros e uma longa estação de crescimento, aproximadamente 180 dias (Warwick et al., 2006).

No entanto, a *B. carinata* também pode ser adequada a climas mais quentes, evidenciando resistência ao calor e à seca (Basili & Rossi, 2018).

O seu crescimento mostra-se mais adequado em climas semi-áridos com temperatura diurna de 10 a 25 °C, suportando 5 a 35 °C. Para o seu desenvolvimento é desejável uma precipitação anual média de 1000 a 1500 milímetros, tolerando um intervalo de 800 a 1700 milímetros. Esta espécie mostra aptidão em terrenos cultivados e terrenos marginais, preferindo um solo fértil e bem drenado, com um pH no intervalo de 5,5 a 8, suportando 5 a 8,5 (FAO, 2019).

É também importante salientar a sua capacidade de tolerar níveis relativamente elevados de salinidade (Canam et al., 2013). No entanto, em solos com níveis de salinidade acima da média as sementes podem não germinar (Mnzava & Schippers, 2007).



A *B. carinata* (Figura 1.4) possui um porte ereto, com 0,9 a 1,2 metros de altura na época de floração, mas que poder atingir 1,8 metros. O caule é glabro e altamente ramificado. É importante salientar também que esta espécie é constituída por um extenso sistema de enraizamento (FAO, 2019; Mekonnen, 2014).

As folhas são simples, pecioladas, glabras e com inserção alterna no caule. As folhas situadas na parte inferior da planta apresentam dimensões até 20 centímetros de comprimento e 10 centímetros de largura, com forma ovada a oblonga, geralmente verdes, com as nervuras arroxeadas ou verdes. As folhas mais acima na planta são gradualmente menores, mais estreitas e de cor mais clara (CFIA, 2019).

O tipo de inflorescência é em racemo, altamente ramificado e extenso, com flores que são actinomórficas, ou seja, com simetria radiada. Estas são constituídas por 4 sépalas verdes com 4 a 7 milímetros de comprimento e 4 pétalas amarelas com 6 a 10 milímetros de comprimento. As flores têm 6 estames, dois deles menores que os restantes quatro, e os pedicelos apresentam 5 a 12 milímetros de comprimento. A floração começa no rebento mais baixo, no racemo principal, e continua para cima com 3 a 5 novas flores abertas por dia. A floração na base dos racemos secundários é iniciada aproximadamente três dias após a iniciação floral no racemo principal (CFIA, 2019; Mnzava & Schippers, 2007).



**Figura 1.4:** *B. carinata* numa fase inicial de crescimento (à esquerda) e no início da floração (à direita).

O fruto é a siliqua (Figura 1.5), exibindo geralmente menos de 5 centímetros de comprimento, contendo até 20 sementes (CFIA, 2019; FAO, 2019).

As sementes são globosas, com 1 a 1,5 milímetros de diâmetro, sendo que a sua cor varia entre amarelo, amarelo-acastanhado e castanho. O peso de 1000 sementes é de, aproximadamente, 3 a 5 gramas (Mnzava & Schippers, 2007).



**Figura 1.5:** Síliquis da *B. carinata*.

Dependendo das condições de humidade e temperatura, o desenvolvimento da planta após a sementeira demora cerca de cinco dias, sendo que a germinação é epígea. Existe uma diferença no período necessário para a ocorrência da primeira floração entre culturas direcionadas para uso alimentar e as utilizadas para aproveitamento do óleo das sementes. As primeiras necessitam de mais algumas semanas, visto que, este processo é atrasado pela colheita regular de folhas e rebentos. A *B. carinata* quando cultivada em regiões secas floresce mais cedo, produzindo sementes maduras em quatro meses. Em climas húmidos este processo pode demorar entre cinco e seis meses (Mnzava & Schippers, 2007).

Contudo, é importante salientar que estes períodos de desenvolvimento da planta (data de início da floração, tempo para completar toda a floração e produção de sementes) exibem grande variabilidade, como demonstram alguns dos resultados obtidos em diversas investigações. Um estudo realizado em três localidades da Etiópia revelou um período médio de floração e maturação de 88 e 162 dias, respetivamente (Alemayehu & Becker, 2002). Um estudo realizado no Canadá indicou período médio de 54 dias para a floração e 114 dias para a maturação da planta (Getinet et al., 1996). Um outro estudo realizado no Canadá revelou um período médio de floração e maturação de 51 e 100 dias, respetivamente (Warwick et al., 2006).

O rendimento médio de folhas e outras estruturas da planta pode ser 35 t/ha, mas produtividades de 50 a 55 t/ha já foram observadas. Na Índia e Canadá verificou-se que num bom ano, o rendimento de sementes pode atingir 1200 a 1800 kg/ha (Mnzava & Schippers, 2007).

Dependendo das condições de cultivo e crescimento o teor de óleo das sementes pode variar entre 30 e 50%. A sua composição em ácidos gordos inclui geralmente 42% ácido erúico, 16% linoleico, 18% linolénico, 8% oleico, 7% eicosenóico. As sementes contêm elevado teor de proteína (>30%) e pouca fibra (>3%) (Basili & Rossi, 2018).

A utilização da *B. carinata* divide-se entre a sua utilização como alimento vegetal ou aproveitamento das propriedades do óleo das suas sementes. No continente africano, a planta é usada principalmente devido às suas folhas e rebentos, que podem ser comidos crus ou cozidos, sendo que na Etiópia o óleo

das sementes também é aproveitado. A semente é também utilizada para cozinhar e na medicina tradicional (CFIA, 2019; Mnzava & Schippers, 2007).

Em alguns países, a *B. carinata* tem sido utilizada para biodiesel, continuando a sua exploração para este propósito a ser estudada. O óleo das sementes tem também aplicações industriais, essencialmente quando são necessários óleos com elevado teor de ácido erúico e linolenico. Depois de extraído o óleo das sementes, a matéria remanescente pode incorporar ração animal, embora a presença de glucosinolatos seja um fator limitante. Por outro lado, níveis altos de glucosinolatos podem demonstrar potencial para biofumigação (CFIA, 2019; Mnzava & Schippers, 2007; Warwick et al., 2006).

Esta espécie pode também ser utilizada em rotação de culturas com plantas alimentares, podendo também ser adequada para terrenos marginais e contaminados, tendo em conta que possui propriedades para fitorremediação (Basili & Rossi, 2018).

Além disso, a *B. carinata* mostra-se recetiva às tecnologias de transformação, sugerindo que pode ser adequada como uma planta hospedeira para produção de vários produtos de interesse farmacêutico, incluindo lípidos, novos hidratos de carbono, biofarmacêuticos, proteínas e enzimas alimentares, através de manipulação genética (Warwick et al., 2006).

## **1.2. Produção de culturas energéticas em solos contaminados com metais pesados**

### **1.2.1. Solos marginais- diferentes definições e abordagens a este conceito**

A biomassa agrícola é um recurso fundamental na produção de alimentos e rações, bem como no fornecimento de matéria-prima para a obtenção de uma grande variedade de produtos em biorefinarias. Contudo, a procura crescente deste recurso para a produção de calor, energia, biocombustíveis e materiais de base biológica levou a conflitos na ocupação e uso do solo. Assim, a transição para utilização de culturas energéticas foi acompanhada por questões significativas. Algumas delas foram o debate entre a ocupação de terrenos para produção de alimentos ou bioenergia, assim como preocupações ambientais, tais como o impacto no uso do solo e os efeitos das alterações e consequências indiretas da sua utilização, impacto nos recursos hídricos, biodiversidade e conservação de habitats (Dauber et al., 2012; Pulighe et al., 2019).

Os solos/terrenos marginais surgem como uma potencial alternativa na resolução destes problemas. A integração das culturas energéticas em terrenos marginais, limitando a produção de bioenergia apenas a estes espaços e reservando os solos agrícolas mais produtivos para alimentos, pode contribuir assim, em simultâneo, para melhorar a segurança alimentar e apoiar o desenvolvimento de energia a partir da biomassa (Dauber et al., 2012; Jiang et al., 2019; Kang et al., 2013a, 2013b). De facto, várias organizações internacionais, instituições governamentais e investigadores, têm defendido e promovido o cultivo de biomassa para fins energéticos em solos marginais como uma solução viável (Pulighe et al., 2019).

A introdução das culturas energéticas em terrenos marginais pode também trazer outro tipo de benefícios, tais como a geração de receita agrícola adicional e o melhoramento de serviços ecossistêmicos (Jiang et al., 2019). Alguns estudos indicam que a implementação desta estratégia pode ajudar no controlo da erosão do solo, sequestro de carbono no solo, absorção ou retenção de poluentes ou metais, melhoria das propriedades do solo, entre outros (Blanco-Canqui, 2016).

Embora o conceito de terrenos marginais já tenha sido amplamente aplicado, a definição e os métodos utilizados para a sua identificação e avaliação são diversos, dificultando a comparação científica de diversos estudos e estabelecimento de padrões (Jiang et al., 2019; Kang et al., 2013a). A incerteza na definição e caracterização de solos marginais, assim como as limitações no conhecimento da extensão, localização e qualidade deste tipo de terrenos leva a alguma inconsistência na avaliação da disponibilidade destas áreas (Dauber et al., 2012; Kang et al., 2013a).

Os solos marginais são frequentemente associados a uma presença de funções ecológicas ou produção de serviços e benefícios para a sociedade inferior a certas expectativas, para um dado uso (Pulighe et al., 2019).

A aplicação do termo “solos/terrenos marginais” pode ser dividida em dois principais contextos, mais precisamente no âmbito económico ou referente à marginalidade física do solo.

Na definição económica considera-se um terreno marginal aquele em que não é possível atingir uma produção com uma boa relação custo-benefício, sob determinadas condições locais, técnicas de cultivo, políticas agrícolas e condições macroeconómicas e legais (Kang et al., 2013a; Schroers, 2006).

Na abordagem física e produtiva os terrenos marginais são frequentemente identificados por algumas limitações que os tornam com baixo potencial ou inadequados para a atividade agrícola (Kang et al., 2013a). Esta marginalidade pode dever-se à combinação de vários fatores que podem estar relacionados a desvantagens observáveis, por vezes transitórias, ou a restrições de uso (Pulighe et al., 2019).

Deste modo, tendo em conta os diferentes significados e abordagens possíveis para o termo “solos/terrenos marginais”, este deve ser descrito de acordo com contexto e o propósito da sua utilização (Mehmood et al., 2017; Pulighe et al., 2019).

### **1.2.2. Solos contaminados com metais pesados**

Quando se abordam questões relacionadas com o solo, é impossível não destacar a dependência da sociedade em relação a este recurso, tendo em conta que a manutenção da sua produtividade é fundamental para a sobrevivência humana. No entanto, o solo é também responsável por um outro importante conjunto de funções ecossistêmicas. A sua capacidade de regulação ambiental deve-se às suas características que permitem que se comporte como um sistema de filtração, armazenamento e transformação, possibilitando um controlo do transporte de elementos e substâncias químicas para outros compartimentos ambientais. Assim, a manutenção das propriedades do solo e do seu equilíbrio

natural é fundamental para assegurar que estas capacidades permaneçam intactas (Kabata-Pendias, 2011).

A procura pelo desenvolvimento social e económico a nível global implicou uma intensificação das atividades antropogénicas. Consequentemente, os níveis de contaminação do solo, água e atmosfera atingiram valores excessivos, incluindo-se aqui, a contaminação por metais pesados, verificando-se concentrações no ambiente significativamente maiores nas recentes décadas (Devi et al., 2018; Tsang et al., 2019).

A definição de metais pesados não é precisa, havendo diferenças para esta classificação entre diversos autores, com diversos critérios a serem considerados nesta categorização, tais como o peso atómico, número atómico, densidade, propriedades químicas, entre outros. No entanto, os metais pesados são geralmente referidos como um grupo de elementos de propriedades metálicas com um alto peso atómico e uma densidade superior a  $5 \text{ g.cm}^{-3}$ , possuindo também capacidade para induzir toxicidade (Alloway, 2013; Brevik & Burgess, 2012; Jaishankar et al., 2014; Jarup, 2003; Kabata-Pendias, 2011; Tchounwou et al., 2012). Muitos destes elementos são tóxicos mesmo em baixas concentrações, como por exemplo o arsénio (As), cádmio (Cd), cobre (Cu), crómio (Cr), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), níquel (Ni) e zinco (Zn) (Dixit et al., 2015).

Em contraste com a matéria orgânica, os metais pesados não são biodegradáveis, podendo apenas alterar o seu estado de oxidação. Estes elementos acumulam-se nos organismos vivos (bioacumulação) e as suas concentrações aumentam progressivamente de um nível trófico inferior para um nível trófico superior, um fenómeno também conhecido como biomagnificação (Ali et al., 2013; Ashraf et al., 2019; Yuan et al., 2014).

A poluição provocada por metais pesados pode ser persistente e quase irreversível, especialmente no solo, visto que, aqui a persistência de contaminantes é muito maior do que em outros compartimentos da biosfera (Kabata-Pendias, 2011; Yuan et al., 2014). O facto de o solo atuar como um repositório de longo prazo para os metais pesados proporciona algumas vantagens na preservação ambiental, como por exemplo, retardando a sua transferência para os cursos de água. Contudo, isto implica que o solo se torne numa fonte significativa de metais pesados, apresentando riscos para quem utilize este recurso (Brevik & Burgess, 2012).

A presença de metais pesados no solo constitui um fator de risco devido a algumas características próprias, tais como a sua toxicidade, persistência, bioacumulação e facilidade de absorção pelas plantas, sendo por isso considerados como um dos mais perigosos poluentes. A sua deposição pode degradar as propriedades do solo, assim como afetar o desenvolvimento e produtividade das culturas (Wang et al., 2018). Vários processos fisiológicos e bioquímicos das plantas são afetados pelos metais pesados. Quando as plantas crescem em locais expostos a estes contaminantes podem exibir um metabolismo alterado, uma redução no seu crescimento, menor produção de biomassa e acumulação dos metais. A toxicidade destes contaminantes nas culturas varia consoante a espécie da planta, o metal pesado envolvido, a sua concentração, a sua forma química, e composição e pH do solo (Nagajyoti et al., 2010).

Os metais pesados podem ser classificados como essenciais e não essenciais. Os metais pesados essenciais são considerados como micronutrientes, sendo aqueles necessários aos organismos vivos em quantidades mínimas de forma a garantir o normal decorrer das funções fisiológicas e bioquímicas. Contudo, estes tornam-se tóxicos quando a sua concentração excede as necessidades. Os metais pesados não essenciais não desempenham qualquer função nos organismos vivos (Ali et al., 2013; Ashraf et al., 2019; Khalid et al., 2017; Rai et al., 2019). No conjunto dos metais pesados não essenciais destacam-se o chumbo (Pb), cádmio (Cd), arsénio (As) e mercúrio (Hg), estando incluídos na lista das vinte substâncias mais perigosas pela Agência de Registo de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR) (Khalid et al., 2017; Rai et al., 2019).

Embora os metais pesados sejam elementos naturais constituintes das rochas que compõem a crosta terrestre, a maior parte da contaminação ambiental e exposição humana resulta de atividades antropogénicas (Brevik & Burgess, 2012; Tchounwou et al., 2012).

No caso das fontes naturais de metais pesados, tendo em contas que estes são derivados do material parental do solo, destacam-se os processos de meteorização, erosão e atividade vulcânica (Dixit et al., 2015; Li et al., 2019). Devido à progressiva desagregação das rochas provocadas pelas diferentes formas de meteorização e erosão, os elementos são incorporados no solo dentro de partículas inorgânicas de diferentes dimensões. A meteorização química é responsável pela libertação de uma fração de metais pesados como espécies dissolvidas na solução do solo, onde podem ser incorporados em outras formas orgânicas ou inorgânicas (Brevik & Burgess, 2012).

Ao longo dos anos, as atividades humanas contribuíram para perturbação do ciclo geoquímico dos metais pesados no ambiente, verificando-se a acumulação de uma ampla variedade de metais pesados no solo. Esta situação foi agravada com os progressos significativos que tiveram lugar no setor agrícola e industrial, contribuindo para o aumento das concentrações destes elementos. Algumas das fontes antropogénicas de metais pesados no solo mais recorrentes são as atividades mineiras e de fundição, queima de combustíveis fósseis, aplicação de pesticidas e fertilizantes fosfatados, deposição atmosférica, utilização de biosólidos no solo, entre outros (Dixit et al., 2015; Li et al., 2019; Liu et al., 2018).

Algumas das principais fontes de diversos metais pesados são apresentadas na Tabela 1.2.

**Tabela 1.2:** Diferentes fontes de metais pesados (Lone et al., 2008)

<b>Metal pesado</b>	<b>Fontes</b>
As	Semicondutores, refinação de petróleo, preservadores de madeira, aditivos para alimentação animal, centrais elétricas a carvão, herbicidas, vulcões, mineração e fundição
Cd	Fontes geogénicas, atividades antrópicas, fundição e refinação de metais, queima de combustíveis fósseis, aplicação de fertilizantes fosfatados, lamas de depuração
Cr	Indústria de galvanoplastia, lamas, resíduos sólidos, curtumes
Cu	Indústria de galvanoplastia, fundição e refinação, mineração, biossólidos
Hg	Erupções vulcânicas, incêndios florestais, emissões das indústrias produtoras de soda cáustica, carvão, queima de turfa e madeira
Ni	Erupções vulcânicas, aterros sanitários, incêndios florestais, meteorização dos solos e materiais geológicos
Pb	Extração e fusão de minérios metálicos, queima de gasolina com chumbo, esgotos urbanos, resíduos industriais enriquecidos em Pb, tintas
Zn	Indústria de galvanoplastia, fundição e refinação, mineração, biossólidos

A utilização de diversos metais pesados em várias aplicações industriais, agrícolas, domésticas e tecnológicas aumentou a exposição humana a estes elementos, levantando preocupações sobre os seus potenciais efeitos para o ambiente e saúde pública (Jaishankar et al., 2014; Tchounwou et al., 2012).

Os metais pesados podem causar toxicidade em moléculas biológicas de três maneiras distintas, como a produção de espécies reativas, bloqueando grupos funcionais e substituindo íons metálicos básicos. Estes elementos são apontados como causadores de várias doenças no ser humano, tais como doenças cardiovasculares, cancro, problemas cognitivos, danos nos rins, sistema nervoso, cérebro, pele e ossos (Ashraf et al., 2019; Khalid et al., 2017).

Alguns efeitos prejudiciais de diversos metais pesados para a saúde humana são resumidos na Tabela 1.3.

**Tabela 1.3:** Efeitos prejudiciais de alguns metais pesados na saúde humana (Ayangbenro & Babalola, 2017)

<b>Metal pesado</b>	<b>Efeitos no ser humano</b>
As	Lesões cerebrais, doenças cardiovasculares e respiratórias, conjuntivite, dermatite, cancro da pele
Cd	Doença óssea, tosse, enfisema, dor de cabeça, hipertensão, itai-itai, doenças renais, cancro do pulmão e da próstata, linfocitose, anemia microcítica e hipocrômica, atrofia testicular, vômitos
Cr	Broncopneumonia, bronquite crônica, diarreia, enfisema, dor de cabeça, irritação da pele, comichão nas vias respiratórias, doenças hepáticas, cancro do pulmão, náuseas, insuficiência renal, toxicidade reprodutiva, vômitos
Cu	Dor abdominal, anemia, diarreia, dor de cabeça, lesões hepáticas e renais, distúrbios metabólicos, náuseas, vômitos
Hg	Ataxia, déficit de atenção, cegueira, surdez, diminuição da taxa de fertilidade, demência, tonturas, disfasia, irritação gastrointestinal, gengivite, problemas renais, perda de memória, edema pulmonar, redução da imunidade, esclerose
Ni	Doenças cardiovasculares, dores no peito, dermatite, tonturas, tosse seca e falta de ar, dores de cabeça, doenças renais, cancro do pulmão, náuseas
Pb	Anorexia, nefropatia crônica, lesões nos neurónios, hipertensão arterial, hiperatividade, insónia, dificuldades de aprendizagem, fertilidade reduzida, lesões do sistema renal, fator de risco da doença de Alzheimer
Zn	Ataxia, depressão, irritação gastrointestinal, hematuria, icterícia, impotência, insuficiência renal e hepática, letargia, degenerescência macular, febre dos fumos metálicos, cancro da próstata, convulsões, vômitos

Como já foi referido, o teor de metais pesados no solo resulta da soma entre a concentração de elementos provenientes dos minerais da rocha-mãe e das cargas adicionais provenientes de atividades antropogénicas. Contudo, nem toda essa concentração de metais pesados está disponível para ser imediatamente absorvida pelas plantas e assim contribuir para um possível episódio de toxicidade (Alloway, 2013; Ayangbenro & Babalola, 2017).

Assim, a concentração de metais pesados no solo deve ser considerada de duas maneiras distintas, ou seja, deve distinguir-se a concentração total da concentração biodisponível (Alloway, 2013). A concentração biodisponível é a fração da quantidade total de um elemento que num dado período está disponível para absorção por parte de organismos vivos (Ayangbenro & Babalola, 2017). Na verdade, a biodisponibilidade destes elementos depende de diversas propriedades inerentes ao meio onde se encontram e ao próprio metal pesado, tais como o pH, potencial redox, capacidade de troca catiónica, mineralogia do solo, condições microbianas e biológicas, teor de matéria orgânica, teor de argila, teor de óxidos de ferro (Fe) e manganês (Mn), entre outros (Alloway, 2013; Khalid et al., 2017; Liu et al.,



2018). A concentração total refere-se a todas as formas dos elementos no solo, como compostos iônicos ligados à estrutura de minerais primários e secundários, adsorvidos a minerais secundários como argilas, óxidos e carbonato, ligados à matéria orgânica e iões livres, e complexos orgânicos e inorgânicos solúveis (Alloway, 2013).

#### **1.2.2.1. Presença de zinco no solo**

O Zn é um metal de transição que pertence ao grupo 12 da tabela periódica, com o número atômico 30 e massa atômica 65,39. Apresenta uma densidade de 7,14 g cm<sup>-3</sup>, ponto de fusão a 419,5 °C e ponto de ebulição de 906 °C (Kabata-Pendias, 2011; Wuana & Okieimen, 2011).

Este metal está presente no solo no estado de oxidação +2 (Zn<sup>+2</sup>). Se o pH do solo for maior que 7, ZnOH<sup>+</sup> torna-se a espécie dominante na solução do solo, e para pH>9 a espécie neutra Zn(OH)<sub>2</sub> é a mais relevante (Alloway, 2013).

O zinco é um dos metais pesados mais solúveis e móveis, especialmente em solos ácidos. Estima-se que, em geral, as concentrações de Zn na solução do solo aumentem cinco vezes por cada unidade de diminuição do pH. Apesar da elevada mobilidade do Zn na maioria dos solos, as frações de argila e matéria orgânica têm capacidade de reter fortemente o Zn, sobretudo em condições de pH neutro ou alcalino (Alloway, 2013; Brevik & Burgess, 2012; Kabata-Pendias, 2011).

O Zn desempenha um papel fundamental em muitos processos biológicos e é um oligoelemento essencial para o adequado crescimento e reprodução das plantas, e para a saúde de animais e seres humanos. Em concentrações mais elevadas do que o essencial é também associado à ocorrência de contaminação do solo, água e cadeia alimentar (Noulas et al., 2018).

O teor de Zn em solo natural está relacionado com a composição química da rocha de origem e com a extensão dos processos de meteorização. A presença de Zn é maior em rochas magmáticas e rochas sedimentares ricas em argila. Nas rochas magmáticas o teor varia entre 40 e 120 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto que nas rochas sedimentares atinge valores entre 80 e 120 mg kg<sup>-1</sup> em sedimentos argilosos, 15-30 mg/kg em arenitos e 10-25 mg kg<sup>-1</sup> em calcários. Em solo agrícola o teor em Zn pode variar bastante, apresentando um valor médio de 50-55 mg kg<sup>-1</sup> (Brevik & Burgess, 2012; Noulas et al., 2018).

A consideração da capacidade de o solo fornecer Zn para absorção por parte das plantas não se deve basear no teor total deste metal no solo. Na verdade, apenas uma pequena parte do Zn total no solo (<1 mg kg<sup>-1</sup>) está presente na solução do solo que pode ser absorvida pelas culturas. Alguns fatores do solo como o teor total de Zn e argila, pH, potencial redox, atividade de microrganismos do solo, presença de outros nutrientes e condições climáticas, controlam a quantidade de Zn na solução do solo e, conseqüentemente, afetam a biodisponibilidade do Zn para absorção pelas plantas (Noulas et al., 2018).

Os mecanismos de adsorção desempenham um papel muito importante nas relações solo-planta do Zn, controlando o seu teor na solução do solo. As argilas são particularmente importantes como locais de adsorção de Zn, assim como a matéria orgânica e, em menor grau, os óxidos hidratados de ferro e manganês (Brevik & Burgess, 2012).

Como referido anteriormente, o Zn desempenha funções metabólicas essenciais nas plantas, destacando-se a sua atividade como componente de uma grande variedade de enzimas. Algumas das funções básicas do Zn nas plantas relacionam-se com o metabolismo de hidratos de carbono, lípidos e ácidos nucleicos, síntese de proteínas, estrutura das membranas celulares, regulação e síntese de auxinas, fotossíntese, resistência a doenças e a clima seco. Em condições de deficiência de Zn, o rendimento de várias culturas alimentares importantes, bem como a qualidade do produto agrícola podem diminuir. Alguns dos principais fatores que contribuem para a deficiência em Zn nas culturas estão associados a algumas características do solo, como por exemplo, um elevado pH, solos calcários, pouca matéria orgânica, absorção limitada de Zn pelas raízes das plantas devido a uma zona restrita de raízes, entre outros (Kabata-Pendias, 2011; Noulas et al., 2018).

As atividades humanas como o uso de fertilizantes, lamas, poluição industrial, entre outras, têm contribuído para o aumento do teor de Zn na superfície dos solos, motivando preocupações sobre a toxicidade e tolerância ao Zn nas plantas. O limite de toxicidade do Zn depende da espécie e do genótipo, assim como do estado de desenvolvimento da planta. Diversas espécies exibem tolerância ao Zn, podendo mesmo acumular grandes quantidades deste metal sem mostrar sintomas de toxicidade (Alloway, 2013; Kabata-Pendias, 2011).

#### **1.2.2.2. Presença de chumbo no solo**

O Pb é um metal pertencente ao grupo 14 e da tabela periódica, com o número atómico 82 e massa atómica 207,2. Apresenta uma densidade de  $11,4 \text{ g cm}^{-3}$ , ponto de fusão a  $327,4^\circ\text{C}$  e ponto de ebulição de  $1725^\circ\text{C}$  (Kabata-Pendias, 2011; Wuana & Okieimen, 2011).

Até ao momento não foi reconhecida qualquer função benéfica do Pb para algum organismo vivo, sendo a sua capacidade de induzir toxicidade um motivo de grande preocupação, nomeadamente devido aos efeitos que pode provocar na saúde pública, alguns dos quais já referidos anteriormente (Alloway, 2013; Pourrut et al., 2011).

O chumbo presente nos solos ocorre predominantemente como  $\text{Pb}^{+2}$ , embora o seu estado de oxidação  $+4$  também seja conhecido (Alloway, 2013; Kabata-Pendias, 2011). A sua presença no solo pode ocorrer como um ião metálico livre, complexado com constituintes inorgânicos ou ligantes orgânicos, podendo também estar adsorvido à superfície de partículas (Kushwaha et al., 2018; Pourrut et al., 2011).

A concentração natural de Pb no solo reflete o material de origem deste, com teores de Pb maiores em rochas ígneas ácidas ( $10\text{-}25 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e sedimentos argilosos ( $14\text{-}40 \text{ mg kg}^{-1}$ ), do que em rochas ultrabásicas e calcárias com concentrações de  $0,1$  a  $8 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $3$  a  $10 \text{ mg kg}^{-1}$ , respetivamente (Brevik & Burgess, 2012; Kabata-Pendias, 2011). Estima-se que o teor médio de Pb a nível mundial em solos não contaminados seja  $17 \text{ mg kg}^{-1}$  (Alloway, 2013).

A extensa utilização deste metal em atividades antropogénicas provocou o aumento da sua dispersão nos solos, especialmente nas camadas superiores, diminuindo a sua concentração com a profundidade (Kushwaha et al., 2018). Um dos fatores que contribui para a acumulação de Pb na zona superficial do solo é a sua afinidade com a matéria orgânica (Brevik & Burgess, 2012; Kabata-Pendias, 2011).

Relativamente à mobilidade no solo, o Pb é considerado o elemento menos móvel de todos os metais pesados. A sua baixa concentração na solução do solo deve-se à facilidade de adsorção do Pb pela matéria orgânica, argilas, óxidos de ferro e manganês, podendo também estar incorporado em compostos carbonatados e fosfatados (Kabata-Pendias, 2011). Assim, acredita-se que apenas pequenas quantidades de Pb no solo são solúveis e, portanto, disponíveis para absorção pelas plantas (Kushwaha et al., 2018; Pourrut et al., 2011). No entanto, a solubilidade do Pb pode aumentar devido a alguns parâmetros do solo, como por exemplo o aumento da acidez (Kabata-Pendias, 2011).

A absorção de Pb pelas plantas está dependente do comportamento deste elemento no solo, influenciado por diversos fatores (pH, capacidade de troca catiónica, presença de ligantes orgânicos e inorgânicos, composição granulométrica, teor de Pb, entre outros), assim como de fatores associados à planta, nomeadamente a área de superfície radicular (Pourrut et al., 2011).

A fração biodisponível de Pb no solo pode ser absorvida pelo sistema radicular das culturas, onde se acumula, podendo posteriormente ser transportada para as partes aéreas da planta. Contudo, esta translocação para zonas superiores da planta é muito reduzida, tendo em conta que acumulação nas raízes representa aproximadamente 98% do Pb absorvido, sendo que estes valores dependem bastante da espécie da planta (Kushwaha et al., 2018). No caso de culturas alimentares, a reduzida absorção e translocação de Pb para as partes aéreas é benéfica para evitar a entrada deste metal na cadeia alimentar. No entanto, quando se pretende efetuar remediação dos solos contaminados pretende-se o oposto, ou seja, requerem-se plantas que possam absorver e acumular elevados níveis de Pb e deslocá-lo para as zonas superiores sem manifestar grandes sinais de toxicidade (Pourrut et al., 2011).

Entre os comuns poluentes que afetam as plantas, o Pb é um dos mais tóxicos e mais frequentemente encontrados (Kumar & Prasad, 2018; Kushwaha et al., 2018). A sua acumulação excessiva nos tecidos da planta pode prejudicar, diretamente ou indiretamente, várias funções morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, como por exemplo o crescimento das culturas, a germinação das sementes, alongamento das raízes, a produção de clorofila, assim como outros processos (Kumar & Prasad, 2018; Pourrut et al., 2011).

### **1.2.3. Fitorremediação de solos contaminados com metais pesados**

Dada a extensão do problema de contaminação de solos com metais pesados e dos seus riscos associados, tanto para a saúde pública como para o funcionamento dos ecossistemas, é de grande relevância assumir medidas de remediação nestes solos (Ashraf et al., 2019; Liu et al., 2018; Mahar et al., 2016).

Esta necessidade de remediação do solo levou a aplicação de diversos métodos baseados em tecnologia física, química, térmica/elétrica e biológica (Kabata-Pendias, 2011; Liu et al., 2018). A aplicação destas tecnologias pode recorrer a estratégias *in situ* e *ex situ*. A remediação *in situ* refere-se ao tratamento do poluente no local de origem, enquanto as estratégias *ex situ* envolvem a escavação e remoção do solo contaminado para posterior tratamento (Li et al., 2019). As técnicas de remediação consistem na remoção ou conversão dos contaminantes em formas menos móveis, ou seja, com menor

grau de biodisponibilidade. A seleção do método mais adequado é baseada na natureza dos contaminantes, da sua concentração, das características do local contaminado e do uso final do material contaminado. Contudo, estas ações costumam representar um investimento económico elevado, tornando estes projetos inviáveis em certos casos (Cristaldi et al., 2017; Kabata-Pendias, 2011; Li et al., 2019; Sherameti & Varma, 2010). É também importante salientar que certos métodos podem causar uma destabilização do ecossistema natural e efeitos adversos na estrutura e produtividade do solo (Ashraf et al., 2019; Sherameti & Varma, 2010).

A fitorremediação surge como uma tecnologia *in situ* emergente, apresentando vantagens ecológicas e menores custos económicos relativamente a outras técnicas convencionais de remediação do solo (Ashraf et al., 2019; Liu et al., 2018). Esta estratégia consiste na utilização de plantas e da sua comunidade microbiana na rizosfera para remover ou converter contaminantes em formas com menor perigosidade (Ali et al., 2013). Determinados fatores como a natureza do contaminante, a sua biodisponibilidade, as propriedades do solo e a espécie vegetal, são preponderantes nos mecanismos e eficiência deste processo (Cristaldi et al., 2017; Khalid et al., 2017).

A fitorremediação abrange diversas técnicas e aplicações, as quais diferem no processo pelo qual as plantas podem imobilizar, remover ou degradar contaminantes (Khalid et al., 2017). Nestas estratégias incluem-se a fitoextração, fitodegradação, rizofiltração, fitoestabilização e fitovolatilização (Sherameti & Varma, 2010).

A fitoextração consiste no cultivo de plantas que são selecionadas pela sua capacidade de concentrar contaminantes removidos do solo nos seus tecidos (Sherameti & Varma, 2010). Este mecanismo envolve a remoção dos contaminantes biodisponíveis presentes no solo através do sistema radicular das culturas, sendo depois direcionados para as componentes aéreas das plantas, permitindo assim reduzir a concentração do contaminante, sem afetar as propriedades do solo. Depois de colhida, a biomassa contaminada pode ter diversas utilizações. Para uma maximização do processo de fitoextração, deve ser prioritária a utilização de culturas com crescimento rápido, uma alta produção de biomassa, um sistema radicular extenso e uma capacidade elevada de acumulação dos contaminantes nas suas estruturas superiores. (Ashraf et al., 2019; Khalid et al., 2017).

Quanto à técnica de fitodegradação, esta implica a utilização de plantas e os microrganismos associados para degradar poluentes orgânicos em formas com menor toxicidade ou imobilizáveis, de forma a impedir a sua entrada na cadeia alimentar ou ambiente (Sherameti & Varma, 2010).

Na rizofiltração ocorre o uso de raízes das plantas para absorver e adsorver contaminantes orgânicos e inorgânicos, principalmente metais, de substratos aquosos. Na rizofiltração podem ser usadas plantas terrestres e aquáticas, sendo que, as terrestres são frequentemente utilizadas devido ao facto de possuírem sistemas radiculares mais extensos e fibrosos (Ashraf et al., 2019).

A fitoestabilização consiste na imobilização dos contaminantes no sistema radicular das plantas através de absorção e adsorção nas raízes ou precipitação na rizosfera, reduzindo a sua mobilidade no solo, limitando desta maneira a biodisponibilidade. Nesta técnica, a introdução de determinadas culturas permite induzir alterações na composição química do solo, facilitando a imobilização/estabilização dos

contaminantes (Cristaldi et al., 2017; Mahar et al., 2016). Geralmente, as plantas utilizadas na fitoestabilização caracterizam-se pela sua tolerância a estes elementos, apresentando uma elevada produção de biomassa radicular e baixa capacidade de translocação dos contaminantes absorvidos pela raiz para os tecidos aéreos (Liu et al., 2018). Contudo, esta não pode ser considerada como uma abordagem de longo prazo, visto que, os contaminantes persistem no solo com a mesma concentração (Ashraf et al., 2019; Khalid et al., 2017). A fitoestabilização pode ser apropriada em locais onde existam limitações técnicas ou regulamentares que interfiram com a seleção e implementação das técnicas de remediação mais adequadas. A utilização de plantas por via deste mecanismo pode reduzir a lixiviação, reduzir a erosão do solo devido à estabilização do solo pelo sistema radicular, e diminuir o escoamento superficial devido à presença de vegetação na superfície do solo (Khalid et al., 2017).

Quanto à fitovolatilização, neste mecanismo as plantas utilizadas absorvem os contaminantes do solo, convertendo-os posteriormente em compostos voláteis no seu interior, acabando por libertá-los na atmosfera através da transpiração (Ashraf et al., 2019; Khalid et al., 2017). A grande vantagem associada a esta técnica é a possibilidade de conversão dos contaminantes em substâncias menos tóxicas, como resultado da modificação metabólica a que foram sujeitos. Em contrapartida, um possível inconveniente desta aplicação é a possibilidade da substância modificada ainda apresentar potencial toxicidade, sendo assim reintroduzida no ambiente quando libertada para a atmosfera (Cristaldi et al., 2017). A aplicação da fitoestabilização está limitada a compostos orgânicos e certos metais pesados como o mercúrio (Hg) e o selénio (Se) (Ali et al., 2013).

Entre estas abordagens, a fitoextração parece ser a mais interessante para atuar em solos contaminados com metais pesados devido à sua versatilidade de utilização (Ali et al., 2013; Ashraf et al., 2019). As restantes técnicas podem apresentar um maior conjunto de limitações ou necessidades específicas. A título de exemplo, a fitodegradação só pode ser utilizada no caso de contaminantes degradáveis, pelo que tem uma aplicabilidade limitada na remediação de solos contaminados com metais pesados. No caso da rizofiltração, esta é direcionada especificamente para o tratamento de substratos aquosos, enquanto a fitovolatilização está limitada a certos metais que são capazes de formar compostos voláteis. Relativamente à fitoestabilização, esta técnica não permite a remoção do metal do sistema do solo, centrando a sua ação em tornar esse elemento numa forma imóvel, não garantindo que o mesmo problema não possa ocorrer posteriormente (Sherameti & Varma, 2010).

Um dos fatores que influencia a fitoextração é a espécie vegetal envolvida. Num cenário ideal, as culturas adequadas para este processo devem ter as seguintes características (Ali et al., 2013):

- ✓ Elevada taxa de crescimento;
- ✓ Maior produção de biomassa aérea;
- ✓ Sistema radicular amplamente distribuído e altamente ramificado;
- ✓ Maior acumulação dos metais pesados pretendidos;
- ✓ Capacidade de translocação dos metais pesados acumulados das raízes para as estruturas superiores da planta;
- ✓ Tolerância aos efeitos tóxicos dos metais alvo;
- ✓ Boa adaptação às condições ambientais e climáticas predominantes;

- ✓ Resistência a agentes patogénicos e pragas;
- ✓ Facilidade de cultivo e colheita;
- ✓ Efeito repulsivo para herbívoros para evitar a contaminação a cadeia alimentar;

Na fitoextração é desejada a utilização de plantas hiperacumuladoras, as quais apresentam maior capacidade do que outras espécies no mesmo solo para absorver, translocar e acumular metais pesados em concentrações elevadas nos seus tecidos sem afetar as suas funções metabólicas (Khalid et al., 2017; Liu et al., 2018; Sherameti & Varma, 2010). Isto só é possível devido à sua tolerância a altas concentrações de metais pesados. Contudo, estas culturas podem apresentar uma reduzida biomassa devido a uma maior utilização de energia nos mecanismos necessários para a adaptação às altas concentrações de metais nos tecidos (Kabata-Pendias, 2011).

Podem ser aplicados alguns critérios para designar uma planta como hiperacumuladora para diferentes metais pesados (Sherameti & Varma, 2010):

- ✓ A concentração do metal na biomassa aérea seca deve ser superior a 10 000 mg kg<sup>-1</sup> (1%) para Mn e Zn; 1000 mg kg<sup>-1</sup> (0,1%) para Cu, Ni e Pb; e 100 mg kg<sup>-1</sup> (0,01%) para Cd e As;
- ✓ Deve ter a capacidade acumular metais, mesmo a partir de baixas concentrações externas destes elementos;
- ✓ Deve conseguir transferir eficientemente os metais acumulados da raiz para as estruturas aéreas da planta;

A aplicabilidade da fitoextração está dependente da biodisponibilidade dos metais pesados, podendo afirmar-se que este é o fator limitante deste mecanismo de remediação do solo. Deste modo, alguns parâmetros que influenciam a solubilidade destes elementos no solo, como por exemplo o pH, estão diretamente associados a este processo. (Ashraf et al., 2019).

O potencial do mecanismo de fitoextração pode ser avaliada recorrendo aos fatores de bioconcentração e translocação. O fator de bioconcentração traduz a eficiência de uma planta na absorção de metais a partir do solo, enquanto que o fator de translocação está associado à capacidade da planta em direcionar os metais pesados da raiz para os tecidos aéreos, sendo a razão entre a concentração de metais presente na parte superior da planta e aquela que está nas raízes (Ashraf et al., 2019).

Este mecanismo torna-se bastante apelativo relativamente a outros métodos de remediação, nomeadamente devido à sua viabilidade económica e ao facto de não ser perturbadora para o solo e ambiente, sendo por isso uma tecnologia bem aceite publicamente. Além disto, esta tecnologia não recorre a ações de escavação e transporte de materiais contaminados, pelo que não existe necessidade de encontrar locais para a deposição desses resíduos, podendo esta ser uma técnica praticável em locais contaminados por diversos metais pesados (Khalid et al., 2017).

Apesar de exibir benefícios claros na remediação do solo, a prática atual da fitoextração ainda precisa de sofrer melhorias, de forma a tornar o processo mais exequível em termos práticos a um nível global. Alguns fatores que suportam esta ideia relacionam-se com o facto de as plantas hiperacumuladoras identificadas serem tipicamente seletivas em relação aos metais que conseguem absorver, limitadas a

determinado *habitat*, apresentarem um reduzido sistema radicular, e baixas taxas de crescimento e rendimento de biomassa. Além disto, alguns aspetos como a heterogeneidade dos terrenos, o conhecimento ainda insuficiente sobre o cultivo de espécies hiperacumuladoras, uma possível quebra no rendimento de biomassa ao longo do tempo devido à perda de nutrientes e o tempo estimado como necessário para concluir o processo de descontaminação, confirmam que a fitorremediação se encontra ainda fase de desenvolvimento (Liu et al., 2018).

É importante referir que além de uma abordagem contínua e natural do mecanismo de fitoextração, podem ser adotadas diferentes ações com o objetivo de tornar este mecanismo mais eficiente, nomeadamente através do aumento da biodisponibilidade dos metais no solo. A redução do pH e a utilização de agentes quelantes são duas das medidas que podem ser aplicadas para aumentar a disponibilidade dos metais pesados para as plantas. Contudo, esta abordagem pode causar efeitos negativos nas propriedades físicas e bioquímicas do solo, podendo também contribuir para a poluição das águas subterrâneas. (Ali et al., 2013; Ashraf et al., 2019).

A eficiência e eficácia da fitoextração também podem ser ampliadas através do uso da engenharia genética, introduzindo características desejáveis nas espécies de acordo com os requisitos dos locais contaminados. Para esta técnica de fitorremediação as culturas podem ser manipuladas de forma a alcançar uma maior tolerância e sequestro de metais nos vacúolos, um maior crescimento e produção de biomassa, uma maior tolerância aos metais, maior transferência de metais desde a raiz até às partes aéreas, entre outras modificações (Khalid et al., 2017).

Considerando a dificuldade na exploração de plantas hiperacumuladoras de metais pesados, podem ser testadas culturas de crescimento rápido para a extração destes elementos no solo. Estas culturas apesar de não acumularem concentrações tão elevadas de metais nos seus tecidos, apresentam normalmente maiores rendimentos de biomassa aérea, podendo constituir um bem comercial depois de colhidas, através da sua valorização energética (Liu et al., 2018).

Na aplicação de técnicas de fitorremediação deve também ser considerado o destino final da biomassa, visto que, esta estará enriquecida com metais (Kabata-Pendias, 2011). Os processos de conversão termoquímica representam a principal via de conversão desta biomassa, com geração de energia elétrica e térmica (Barbosa et al., 2016; Fernando et al., 2016). O aproveitamento da biomassa contaminada com metais pesados para produção de biocombustíveis, calor, eletricidade ou outros produtos secundários deve ser realizado com o auxílio de tecnologias apropriadas às características desta biomassa, diminuindo a sua perigosidade. A recuperação dos metais presentes nas cinzas resultantes dos processos de conversão termoquímica da biomassa pode também ser uma opção (Kabata-Pendias, 2011).

Resumindo, a fitorremediação surge como uma alternativa aos métodos convencionais de remediação do solo que, apesar de apresentarem uma maior eficiência de remoção e períodos de aplicação mais curtos, representam um maior investimento económico e alteram características do solo e água subterrânea. Por outro lado, a fitorremediação é uma tecnologia limpa e mais económica, utilizando organismos vivos para cumprir os objetivos. Além disto, a biomassa resultante pode ser utilizada para

diversos fins, nomeadamente energéticos, e os metais recuperados podem também fornecer matéria-prima para processos industriais (Cristaldi et al., 2017). No entanto, não pode ser ignorado o facto de existirem limitações associadas à fitorremediação, como por exemplo o tempo necessário para a remediação, baixa eficiência das plantas hiperacumuladoras de metais pesados devido ao seu crescimento lento e baixa produção de biomassa, a limitada biodisponibilidade de certos metais, e o facto de ser aplicável a locais com nível de contaminação baixa a moderada, visto que, em solos fortemente contaminados o crescimento das culturas não é garantido (Ali et al., 2013; Mahar et al., 2016).

#### **1.2.4. Produção de culturas energéticas em solos com metais pesados. Consequências e oportunidades**

A produção de culturas energéticas em solos contaminados com metais pesados é uma opção que permite ultrapassar determinados conflitos no uso do solo explorando locais que em condições normais estariam desocupados, particularmente no que se refere a culturas alimentares, não conduzindo assim a qualquer tipo de rendimento produtivo e económico. A introdução de plantas nestes terrenos pode assim constituir uma abordagem eficaz com determinados objetivos específicos, como por exemplo a redução da contaminação do solo e a produção de biomassa com valor comercial associado (Barbosa et al., 2018; Barbosa & Fernando, 2018).

A capacidade demonstrada por algumas culturas para tolerar ambientes contaminados com metais pesados, absorvendo e/ou degradando esses elementos, proporciona uma oportunidade de remediação do solo com benefícios na reabilitação de algumas propriedades do solo e serviços ecossistémicos. Simultaneamente, a biomassa resultante no final da colheita pode permitir a obtenção de rendimentos económicos através do seu processamento para energia e outros bioprodutos. A recuperação dos metais presentes na biomassa pode constituir mais uma via para o aumento da receita (Barbosa et al., 2018; Fernando & Godovikova, 2004).

Apesar disto, a presença e sustentabilidade de culturas energéticas em solos contaminados com metais pesados terá sempre de ser avaliada com base na produtividade alcançada, na sua capacidade de acrescentar valor aos terrenos, nas taxas de absorção, acumulação e degradação dos elementos contaminantes, e também na qualidade da biomassa produzida. Naturalmente, alguns destes aspetos constituem desafios à implementação da estratégia em discussão quando efetuada a comparação com a presença das mesmas culturas em solos não contaminados. Fatores como a perda de produtividade e decréscimo na valorização económica da biomassa são algumas das desvantagens apontadas (Barbosa et al., 2018; Fernando et al., 2018).

### **1.3. Objetivos do trabalho**

A necessidade de produzir culturas energéticas em solos marginais, de modo a evitar conflitos no uso do solo com as culturas alimentares, implica que seja necessário efetuar estudos de modo a aferir o



potencial destas culturas na adaptação a terrenos com condições desfavoráveis. De facto, estas culturas apresentam tolerância a solos pobres e solos contaminados. No entanto, a utilização de solos marginais para a produção de culturas energéticas coloca também desafios. A marginalidade dos solos pode ter efeitos a nível da produtividade e qualidade da biomassa.

No âmbito do projeto MAGIC, financiado pela União Europeia, pretende-se estudar a produtividade e qualidade da biomassa das novas culturas oleaginosas, *Thlaspi arvense* L. e *Brassica carinata* A. Braun, produzidas em solos contaminados com metais pesados.

Com efeito, a presença de metais pesados em solos constitui um dos problemas atuais em muitos solos, sendo a sua presença em excesso um fator que pode contribuir para a degradação da qualidade dos solos, redução do rendimento das culturas, contaminação de linhas de água e alimentos, constituindo assim um risco para a saúde devido às suas propriedades cumulativas.

Deste modo, os objetivos deste projeto são o estudo dos efeitos de solos contaminados com zinco (Zn) ou chumbo (Pb) na produtividade e características da biomassa das duas culturas energéticas referidas anteriormente, assim como a avaliação do seu potencial fitorremediador.



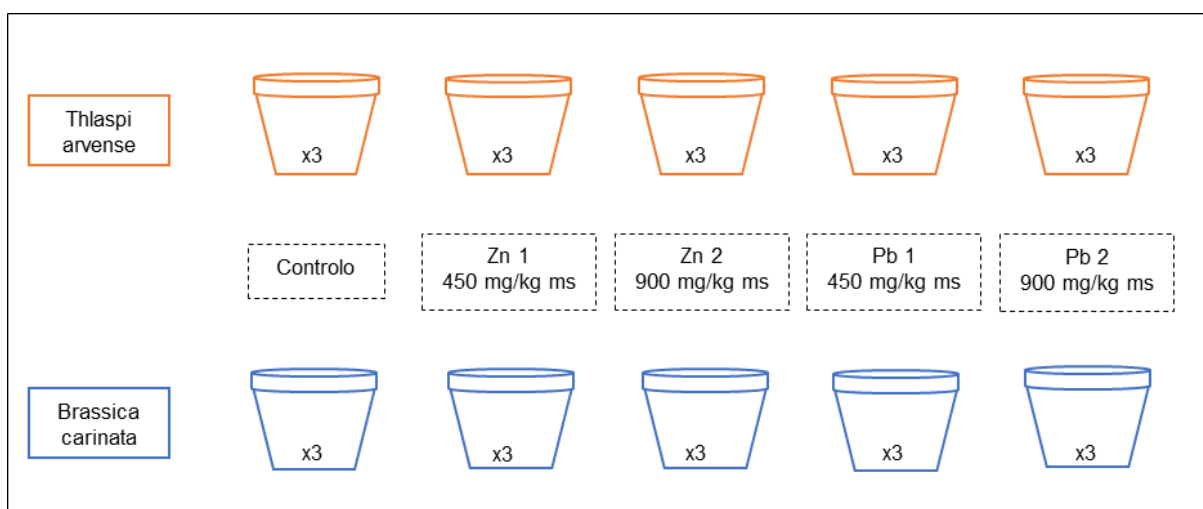
## 2. Materiais e métodos

A metodologia a seguir para avaliar o potencial de produtividade e capacidade fitorremediadora das *Thlaspi arvense* e *Brassica carinata* em solos contaminados com metais pesados foi baseada na realização de um conjunto de ensaios em vasos, nos quais foram testadas diferentes concentrações de Zinco e Chumbo.

A gama de concentrações escolhida para a contaminação dos solos apresenta os valores máximos admissíveis no Decreto-Lei nº 276/09, de 2 de outubro, e o dobro dessa concentração, 450 e 900 mg/kg de matéria seca, respetivamente, para ambos os metais.

De forma a poder comparar os resultados obtidos nestas condições com o comportamento verificado em solo não contaminado, foram também preparados vasos de controlo, nos quais não foi introduzida qualquer quantidade de contaminante.

Os ensaios foram todos realizados em triplicado. Desta forma, para cada uma das espécies foram utilizados 3 vasos de controlo, bem como 3 vasos para cada tipo e nível de contaminação, resultando num total de 30 vasos analisados, como é representado no esquema da Figura 2.1.



**Figura 2.1:** Esquema simplificado da montagem dos ensaios

O passo inicial para a montagem dos ensaios foi preenchimento de cada um dos vasos com 12 kg de terra. A terra foi previamente colhida numa área situada no interior do campus FCT/UNL, tendo sido submetida a crivagem antes de ser introduzida nos vasos para o ensaio.

A etapa seguinte consistiu na realização da contaminação artificial dos solos com sais dos metais em estudo, de forma a atingir os valores de concentração de metais pesados pretendidos, sendo aplicado nos vasos:

- Zinco 1: 450 mg (Zn)/kg, utilizando  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$
- Zinco 2: 900 mg (Zn)/kg, utilizando  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$

- Chumbo 1: 450 mg (Pb)/kg, utilizando  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
- Chumbo 2: 900 mg (Pb)/kg, utilizando  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

Depois de concluída a contaminação dos solos ficaram reunidas as condições para efetuar a sementeira das duas culturas, a qual foi realizada em novembro de 2018.

A partir do momento em que as plantas começaram a revelar algum grau de desenvolvimento, em janeiro de 2019, todos os vasos foram fertilizados com os seguintes nutrientes:

- 3 g N m<sup>-2</sup> (ureia, 46% N);
- 3 g N m<sup>-2</sup> (Nitrolusal, mistura de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  +  $\text{CaCO}_3$ , 27% N);
- 17 g K<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> (sulfato de potássio, 51% K<sub>2</sub>O);
- 23 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> m<sup>-2</sup> (superfosfato, 18% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>);

A rega das culturas foi feita com água da rede do Campus da FCT/UNL. Durante grande parte do ciclo de crescimento das culturas optou-se pela rega distribuída em duas ocasiões por semana. Contudo, esta frequência e o volume de água utilizado foram sendo adaptados, quando necessário, à variação climática e às necessidades que as plantas evidenciavam.

A montagem da totalidade dos ensaios decorreu na varanda do 1º piso do Edifício Departamental, no Campus da FCT/UNL (Figura 2.2), assegurando que o desenvolvimento de todas as culturas foi realizado perante as mesmas condições.



**Figura 2.2:** Local onde feita a montagem dos ensaios, mais precisamente a varanda do 1º piso do Edifício Departamental, do campus da FCT/UNL.

## 2.1. Metodologia aplicada à caracterização da biomassa

Nos ensaios realizados, a caracterização da biomassa foi feita recorrendo à análise da sua produtividade, parâmetros biométricos e parâmetros físico-químicos. O estudo destes parâmetros é fundamental para perceber a influência que a introdução dos metais pesados no solo pode ter no

desenvolvimento e qualidade da biomassa. Esta caracterização e respetivas metodologias aplicadas serão apresentadas neste ponto.

De forma a ser possível iniciar a análise da biomassa, teve de ser efetuada a colheita de ambas as culturas, a qual ocorreu em maio de 2019. Imediatamente após a colheita, determinaram-se os seguintes parâmetros biométricos:

- ✓ altura
- ✓ número de vagens (sílikas no caso da *B. carinata* e síliculas na *T. arvense*) por planta
- ✓ número de plantas por vaso

A altura foi medida com recurso a fita métrica, desde o nível do solo até à extremidade superior da planta. De seguida as plantas foram separadas em diferentes frações (Figura 2.3): raízes, caules, vagens e folhas.



**Figura 2.3:** Separação das diferentes componentes da *B. carinata* (à esquerda) e *T. arvense* (à direita).

A etapa seguinte consistiu na determinação da massa húmida das amostras (de cada fração) por vaso, sendo depois introduzidas na estufa (por 8 h ou até perda da humidade, a 60°C) (Figura 2.4). Depois das amostras terem sido retiradas da estufa, foi determinada a massa seca das mesmas através de nova pesagem.

A secagem da biomassa e a respetiva pesagem, descritas anteriormente, permite a determinação da produtividade, expressa em  $\text{g.m}^{-2}$ , das diferentes componentes das duas culturas, considerando também a área dos vasos. A produtividade aérea total foi calculada através do somatório das produtividades dos caules, folhas e vagens.



**Figura 2.4:** Introdução da biomassa fresca na estufa

Posteriormente, a biomassa seca foi moída e armazenada em sacos de plástico devidamente identificados (cultura, fração, tipo e nível de contaminação) até ser analisada (Figura 2.5).



**Figura 2.5:** Identificação e armazenamento da biomassa

A fase seguinte baseou-se na caracterização das diferentes frações da biomassa através de parâmetros físico-químicos. A descrição destes parâmetros e dos respetivos métodos analíticos utilizados é apresentada na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1:** Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química das plantas

Parâmetros	Métodos analíticos
<b>Humidade</b>	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (2h), repetida até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (AOAC, 1990).
<b>Cinzas</b>	Resíduo mineral obtido após incineração a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ (3h) (AOAC, 1990).
<b>Azoto total</b>	Método Kjeldahl: Mineralização com $\text{H}_2\text{SO}_4$ , destilação e titulação do destilado com $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,02N (Watts & Halliwell, 1996).
<b>Fósforo total</b>	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e $\text{H}_2\text{SO}_4$ (Watts & Halliwell, 1996). Determinação dos fosfatos no digerido, por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanabe & Olsen, 1965).
<b>Zn e Pb</b>	Mineralização das amostras por via seca (incineração em mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ ) e dissolução das cinzas com ácido nítrico (Vandecasteele & Block, 1993). Determinação dos metais, nos extratos, por espectrofotometria de absorção atómica.

Para completar a análise da biomassa foram também aplicados diversos índices que permitem obter uma melhor compreensão das capacidades das culturas para se desenvolverem em solos contaminados com metais pesados, assim como do seu potencial fitorremediador. Desta forma, para esta caracterização foram seleccionados o índice de tolerância (IT), índice de acumulação (IA) e fator de translocação (FT), os quais foram calculados com o auxílio das equações seguintes (Barbosa et al., 2015):

$$IT = \frac{\text{produtividade biomassa aérea em solo contaminado, } g \text{ m}^{-2}}{\text{produtividade biomassa aérea em solo controlo, } g \text{ m}^{-2}}$$

$$IA = \frac{\text{Teor do metal pesado nas plantas em solo contaminado, } mg \text{ kg}^{-1}}{\text{Teor do metal pesado nas plantas em solo controlo, } mg \text{ kg}^{-1}}$$

$$FT = \frac{\text{Teor do metal pesado na fração aérea da planta, } mg \text{ kg}^{-1}}{\text{Teor do metal pesado nas raízes da planta, } mg \text{ kg}^{-1}}$$

O IT foi utilizado para avaliar a suscetibilidade das plantas à contaminação por metais pesados sendo o seu cálculo baseado na produtividade da biomassa aérea das culturas. O IA foi utilizado para avaliar a capacidade das plantas em absorver e acumular um determinado elemento em maiores quantidades do que o habitual. Por fim, o FT foi utilizado para avaliar a capacidade da planta de translocar os metais para as suas frações aéreas. Plantas com IT, IA e FT maiores que um ( $>1$ ) podem potencialmente ser usadas em fitoextração (Barbosa et al., 2015).

## 2.2. Metodologia aplicada à caracterização do solo

De forma a poder caracterizar os solos, estes foram analisados no início do ensaio. O conjunto de parâmetros e as respetivas metodologias usadas na análise das amostras de solo é apresentado na tabela 2.2.

**Tabela 2.2:** Métodos analíticos utilizados na caracterização do solo

Parâmetros	Métodos
<b>Humidade</b>	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (4h), repetida até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (NP-84, 1965).
<b>Carbono orgânico</b>	Método Walkley-Black (Walkley & Black, 1934).
<b>pH</b>	Determinação efetuada por potenciometria com elétrodo de vidro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de 1/2.5 (Baize, 2000).
<b>Condutividade</b>	Determinação efetuada com um condutímetro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de 1/2.5 (Baize, 2000).
<b>Capacidade de troca catiónica</b>	Determinação pelo método de Chapman a pH 7 com $\text{NH}_4\text{OAc}$ 1M (Ross & Ketterings, 2011).
<b>Azoto total</b>	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e $\text{HCl}$ . Determinação do teor de azoto no digerido (Watts & Halliwell, 1996).
<b>Fosfatos extraíveis</b>	Extração com $\text{NaHCO}_3$ 0,5M, na razão L/S igual a 200 (Olsen et al., 1954). Determinação dos fosfatos no extrato filtrado, por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanabe & Olsen, 1965).
<b>Fósforo total</b>	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Determinação dos fosfatos no digerido (Watts & Halliwell, 1996).
<b>Na, K, Ca, Mg, Zn, Pb</b>	Água-régia: Digestão com água-régia de acordo com a (ISO 11466, 1995). Determinação dos metais, no digerido, por espectrofotometria de absorção atómica.



### 3. Resultados e discussão

#### 3.1. Caracterização do solo

Os resultados das propriedades físicas e químicas do solo recolhido e utilizado nos ensaios, antes de ser efetuada qualquer contaminação com zinco ou chumbo, estão descritos na Tabela 3.1.

**Tabela 3.1:** Caracterização inicial do solo utilizado nos ensaios

Parâmetros	Expressão de resultados	Solo
Humidade	%	7,7±0,7
Carbono orgânico	g C.kg <sup>-1</sup>	3,1±0,5
pH	Escala de Sorensen	7,66±0,04
Condutividade	dS.cm <sup>-1</sup>	0,100±0,005
Capacidade de troca catiónica	cmol.c.kg <sup>-1</sup>	9,3±0,6
Azoto total	g.kg <sup>-1</sup>	0,29±0,00
Fosfatos extraíveis	mg.kg <sup>-1</sup>	25±2
Fósforo total	g.kg <sup>-1</sup>	0,70±0,12
Na	g.kg <sup>-1</sup>	1,50±0,07
K	g.kg <sup>-1</sup>	2,1±0,4
Ca	g.kg <sup>-1</sup>	43±5
Mg	g.kg <sup>-1</sup>	1,99±0,05
Zn	mg.kg <sup>-1</sup>	68±4
Pb	mg.kg <sup>-1</sup>	23±3

O solo é ligeiramente alcalino, apresenta um teor em carbono orgânico reduzido, não sendo, portanto um solo muito fértil, e apresenta uma reduzida capacidade de troca catiónica.

#### 3.2. Caracterização da biomassa

Neste ponto são apresentados e discutidos os resultados obtidos na caracterização da biomassa da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense*. Esta caracterização é fundamental para perceber qual foi a resposta destas culturas à presença de chumbo ou zinco com diferentes níveis de concentração. Desta forma, foram considerados parâmetros biométricos e a produtividade destas duas espécies na avaliação do seu crescimento, assim como parâmetros químicos para analisar a qualidade da biomassa obtida.

##### 3.2.1. Parâmetros biométricos

Após a colheita das culturas foram determinados alguns parâmetros biométricos de forma a estudar o desenvolvimento de ambas nos diferentes ensaios. Entre estes parâmetros incluem-se o número médio de plantas por vaso, o número médio de vagens por vaso e a altura máxima atingida pela planta. Estes resultados estão descritos na Tabela 3.2.

No que diz respeito à *B. carinata*, não foram observadas grandes diferenças no número de vagens por vaso entre os ensaios contaminados e o controlo. O menor valor deste parâmetro ocorreu no ensaio Zn 2, sendo que também foi neste ensaio que se verificou a única redução no número de plantas desta espécie. Relativamente à altura máxima atingida pelas plantas desta cultura, verificou-se uma redução significativa nos ensaios contaminados com chumbo e zinco em comparação com o controlo.

Na *T. arvense* o número de plantas por vaso e a altura máxima não parecem ter sido afetados pela presença de zinco ou chumbo nos solos, visto que, os resultados obtidos neste parâmetro foram idênticos aos verificados no controlo. Por outro lado, o número de vagens por vaso sofreu uma forte redução em ambas as contaminações.

**Tabela 3.2:** Parâmetros biométricos obtidos para a *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* nos ensaios da contaminados com zinco ou chumbo.

Espécie	Parâmetro	Controlo	Zn1	Zn2	Pb1	Pb2
<i>Brassica carinata</i>	Nº de plantas por vaso	20±4	32±5	9±4	44±4	36±7
<i>Brassica carinata</i>	Nº de vagens por vaso	468±49	393±3 8	302±14 2	447±1 8	490±25
<i>Brassica carinata</i>	Altura da maior planta (cm)	110±11	77±3	84±7	68±6	73±7
<i>Thlaspi arvense</i>	Nº de plantas por vaso	24±6	23±2	22±6	26±1	23±6
<i>Thlaspi arvense</i>	Nº de vagens por vaso	1006±13 0	452±8 7	373±12	503±5 8	495±20 1
<i>Thlaspi arvense</i>	Altura da maior planta (cm)	64±2	63±9	59±12	67±5	66±3

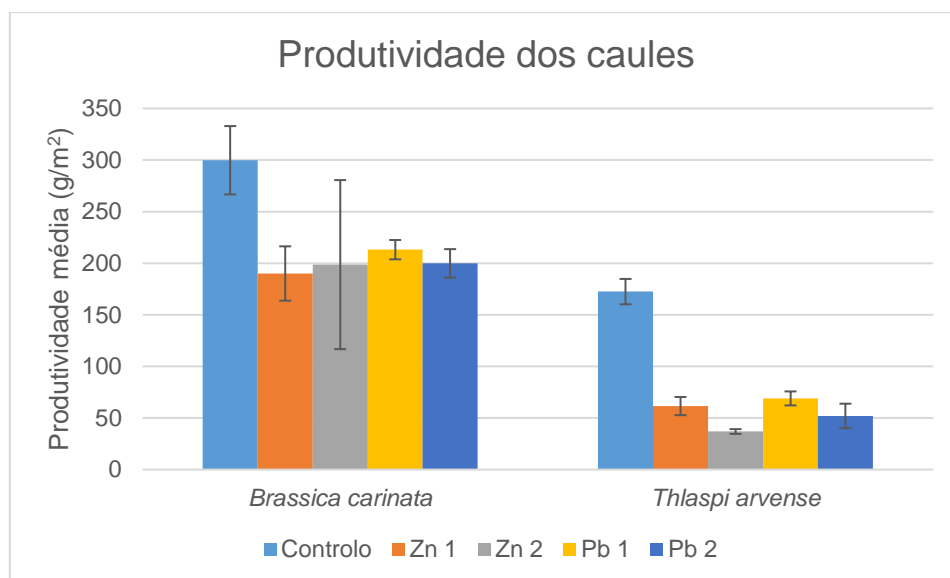
### 3.2.2. Produtividade

Analisar a produtividade de culturas energéticas em diferentes cenários é essencial para conseguir identificar as condições que favoreçam o seu crescimento.

A introdução de culturas em solos marginais, neste caso contaminados com metais pesados, pode significar um menor rendimento produtivo, podendo assim comprometer o desempenho técnico e ambiental na produção de bioenergia. Além da menor produção de energia, a diminuição da produtividade implica uma menor redução de emissões de gases com efeito de estufa. Determinadas características da biomassa como o teor de azoto e cinzas podem aumentar devido ao efeito de concentração resultante da diminuição dos rendimentos, afetando desta forma o desempenho dos equipamentos de conversão da biomassa (Gomes et al., 2018).

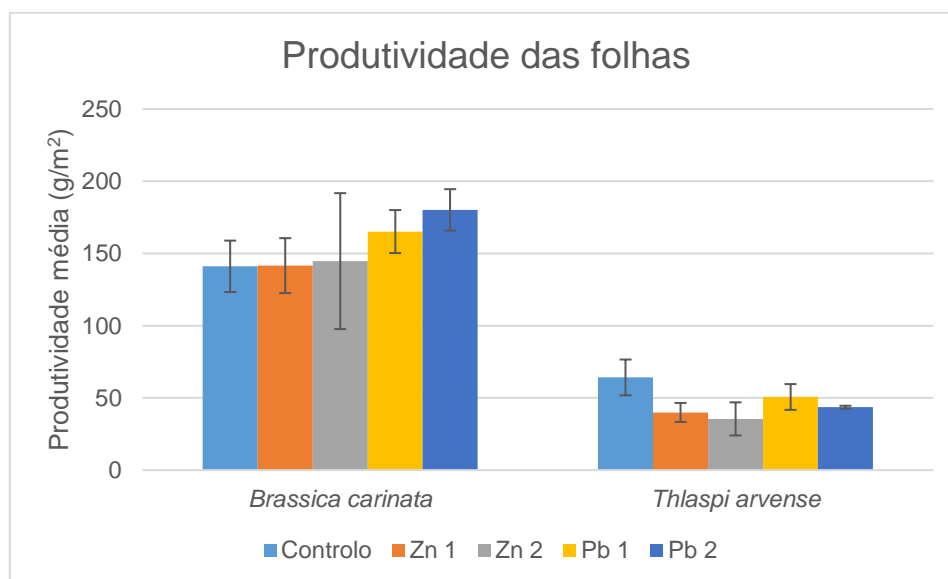
As produtividades (g.m<sup>-2</sup>) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* foram determinadas para as várias frações de cada planta (caules, folhas, vagens e raízes) e também considerando a biomassa aérea total (somatório das produtividades de caules, folhas e vagens). Adicionalmente são também apresentados os valores do Índice de Tolerância (IT) obtidos nos ensaios contaminados.

Os resultados das produtividades dos caules da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* estão representados na Figura 3.1. Para todos os ensaios (controlo e contaminados) foram observados valores de produtividade média mais elevados na *B. carinata* do que na *T. arvense*. Na primeira cultura o valor mais alto registado foi 300 g/m<sup>2</sup> correspondendo ao ensaio controlo. O controlo da *T. arvense* também foi o que apresentou o valor máximo, neste caso 172 g/m<sup>2</sup>, registando-se assim uma diferença de quase 43% entre os controlos das duas espécies. Ambas as culturas parecem ter sido afetadas pela presença de zinco e chumbo no solo, visto que, em ambos os casos, as produtividades médias desceram, relativamente ao controlo. Nas duas culturas verificaram-se menores produtividades nos ensaios contaminados com zinco, apresentando valores ligeiramente inferiores aos registados nos ensaios com chumbo. O decréscimo da produtividade média dos caules nos ensaios contaminados, relativamente ao controlo, foi mais evidente na *T. arvense*, com uma acentuada redução deste parâmetro. De facto, para ambas as culturas, o ensaio que mais se aproximou do valor controlo foi o Pb 2, no entanto esta diferença foi 29% na *B. carinata*, enquanto na *T. arvense* a diferença em relação ao controlo esteve perto de 60%. Por outro lado, a maior diferença relativamente ao controlo aconteceu no ensaio Zn 1 para a *B. carinata* (redução em 37%), e no ensaio Zn 2 para a *T. arvense* (redução em 78%). O facto de, na *T. arvense*, o aumento da concentração de zinco e chumbo para o dobro ter provocado nova quebra de produtividade, deixa também antever a hipótese desta afetação ser agravada quando as concentrações no solo dos metais em estudo sejam também maiores. No que se refere aos ensaios com zinco a diferença entre o nível de contaminação Zn1 e Zn2 foi 40%, enquanto nos ensaios com chumbo o aumento da concentração levou a uma redução em 25%. Na *B. carinata* este efeito não foi tão evidente, não se chegando mesmo a verificar na contaminação com zinco.



**Figura 3.1:** Produtividade média (g.m<sup>-2</sup>) dos caules da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

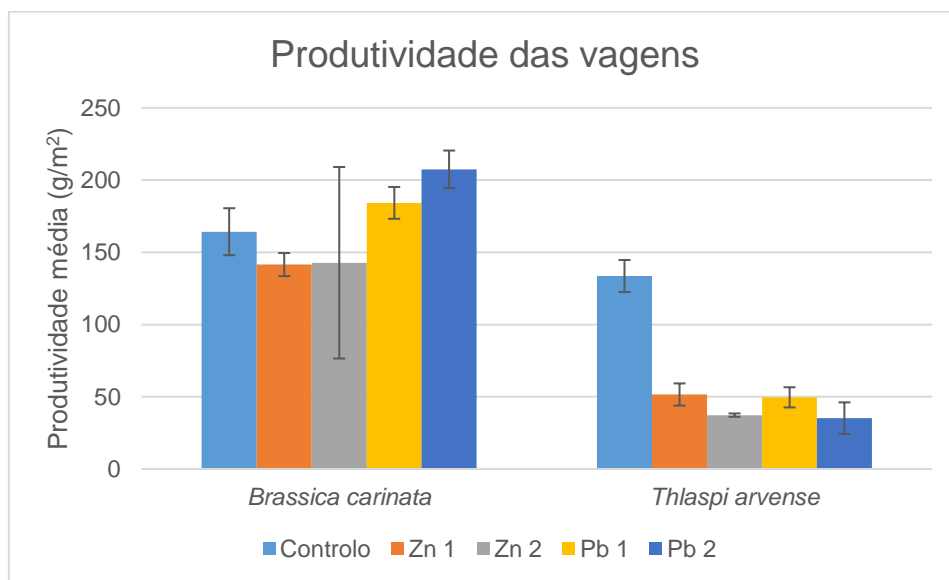
Na Figura 3.2 são apresentados os dados de produtividade média obtidos para as folhas de ambas as culturas. Tal como observado nas produtividades dos caules, também na produtividade média das folhas existe uma clara diferença de resultados entre a *Brassica carinata* e a *Thlaspi arvense*. Tomando como referência os valores no ensaio de controlo, a *B. carinata* registou uma produtividade de 141 g/m<sup>2</sup>, estabelecendo-se uma diferença de quase 55% com a produtividade de 64 g/m<sup>2</sup> obtida na *T. arvense*. No caso da *B. carinata*, a presença de zinco e chumbo no solo não influenciou negativamente a produtividade das folhas, registando-se valores semelhantes ao controlo para ambos os níveis de contaminação. Na verdade, os ensaios com chumbo chegaram mesmo a apresentar produtividades médias ligeiramente superiores, sobretudo o ensaio Pb 2 (180 g/m<sup>2</sup>). No que diz respeito à *T. arvense*, verificou-se uma quebra na produtividade média das folhas para ambas as contaminações. O zinco parece exercer um maior grau de afetação neste parâmetro, em comparação com o chumbo. De facto, nos ensaios Zn 1 e Zn 2 é onde se registam as menores produtividades médias, 40 g/m<sup>2</sup> e 35 g/m<sup>2</sup>, respetivamente. Nesta cultura, o ensaio Pb 1 foi o que mais se aproximou do valor controlo, verificando-se uma redução em 20%.



**Figura 3.2:** Produtividade média (g.m<sup>-2</sup>) das folhas da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

As produtividades das vagens da *B. carinata* e *T. arvense* estão representadas na Figura 3.3. No seguimento da análise já efetuada à produtividade dos caules e folhas, também nas vagens se verificam menores valores de produtividade na *T. arvense* do que na *B. carinata*. Contudo, neste caso as diferenças são mais acentuadas nos ensaios contaminados do que nos ensaios de controlo, onde apenas existe uma diferença de 18% entre os resultados das duas culturas, 164 g/m<sup>2</sup> na *B. carinata* e 134 g/m<sup>2</sup> na *T. arvense*. Na *B. carinata* verificou-se uma ligeira redução na produtividade apenas na contaminação do solo com zinco (13%). No caso da contaminação com chumbo, o mesmo não foi observado. Tal como nas folhas, os ensaios contaminados com chumbo foram os que apresentaram maior produtividade média, com o máximo novamente em Pb 2 (208 g/m<sup>2</sup>). No que se refere à *T. arvense*, tanto o zinco como o chumbo afetaram significativamente a produtividade das vagens, com

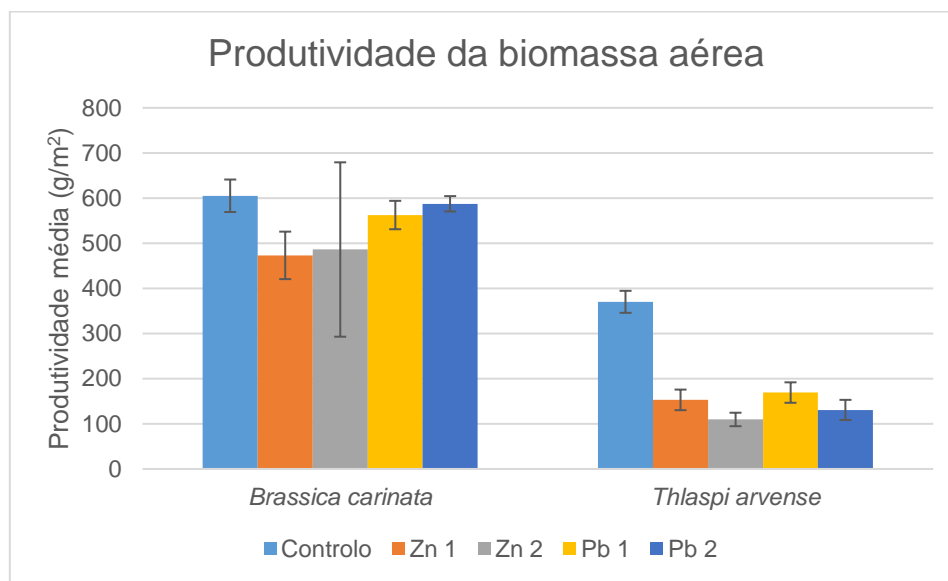
uma redução entre 61% (Zn 1) a 74 % (Pb 2), relativamente ao controlo. Para esta cultura, é também importante salientar que se verificaram quebras adicionais na produtividade quando foi elevada a concentração de ambos os metais no solo. Esta redução entre os níveis de contaminação foi cerca de 29% nos ensaios de zinco e 30% nos de chumbo. Este resultado indica que a produção de *T. arvense* em solos contaminados com Zn e Pb pode afetar a produção de óleo, o principal produto desta cultura destinada à produção de biodiesel, o que pode comprometer a viabilidade económica do processo.



**Figura 3.3:** Produtividade média (g.m<sup>-2</sup>) das vagens da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

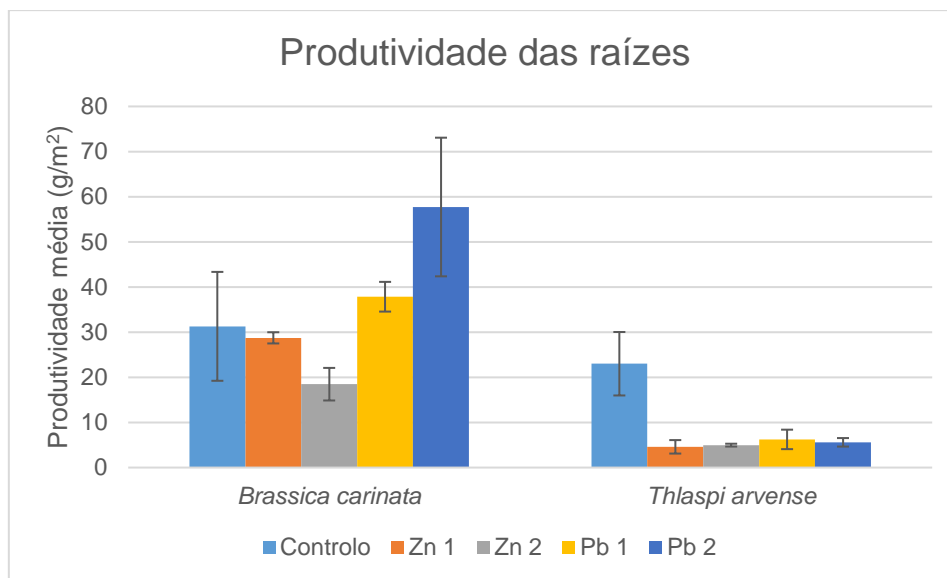
A análise às produtividades da biomassa aérea total das duas culturas está representada na Figura 3.4. No seguimento das análises já efetuadas para a produtividade dos caules, folhas e vagens, verifica-se que quando considerada a biomassa aérea total, existem comportamentos distintos para cada uma das culturas. A produtividade na *B. carinata* é bastante superior à da *T. arvense* em todos os ensaios, principalmente nos contaminados, verificando-se diferenças de 39% no controlo, 68% em Zn 1, 77% em Zn 2, 70 % em Pb 1 e 78% em Pb 2. A produtividade máxima ocorre para ambas as culturas nos ensaios de controlo, com valores de 605 g/m<sup>2</sup> e 370 g/m<sup>2</sup>. As contaminações de zinco e chumbo no solo parecem provocar apenas ligeiras reduções na produtividade da *B. carinata*, enquanto que, no caso da *T. arvense* esta afetação é bastante significativa, com uma descida acentuada nos níveis de produtividade, em relação ao controlo. No caso da *B. carinata* as reduções de produtividade aérea verificadas nos ensaios contaminados relativamente ao controlo foram 22% em Zn 1, 20% em Zn 2, 7% em Pb 1 e 3% em Pb 2. Desta maneira, pode afirmar-se que o zinco foi o metal pesado que mais afetou a produtividade aérea desta cultura, sendo que a influência do chumbo não parece ser significativa. É também importante destacar que, nesta cultura, o aumento da concentração dos metais pesados no solo para o dobro não conduziu a uma maior redução da produtividade. No caso da *T. arvense*, ambos os metais parecem produzir o mesmo nível de efeito na redução da produtividade aérea, mostrando-se, esta cultura, também sensível ao aumento da concentração de metais no solo. Neste caso, as reduções de produtividade aérea verificadas nos ensaios contaminados relativamente

ao controlo foram 59% em Zn 1, 70% em Zn 2, 54% em Pb 1 e 65% em Pb 2. A redução entre os níveis de contaminação foi cerca de 28% nos ensaios de zinco e 22% nos de chumbo.



**Figura 3.4:** Produtividade média ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) da biomassa aérea total da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação de zinco e chumbo.

Por fim, é apresentada na Figura 3.5 as produtividades das raízes obtidas. Mais uma vez, neste caso para as raízes, verifica-se uma menor produtividade da *T. arvense* em comparação com a *B. carinata* em todos os ensaios, nomeadamente nos ensaios contaminados. Observando os resultados obtidos em cada controlo, 31  $\text{g}/\text{m}^2$  na *B. carinata* e 23  $\text{g}/\text{m}^2$  na *T. arvense*, identifica-se uma diferença de 26% na produtividade das culturas. Na *B. carinata* a produtividade das raízes não foi afetada, com exceção para a contaminação com zinco no dobro da concentração permitida por lei, a qual sofreu uma redução de 42% face ao controlo. Os ensaios com chumbo registaram valores superiores ao controlo, especialmente no ensaio Pb 2, o qual apresentou a produtividade média das raízes mais elevada (58  $\text{g}/\text{m}^2$ ), expressando um aumento de 87% face ao controlo. Na *T. arvense* a produtividade foi fortemente restringida com a presença dos metais em relação ao controlo, com reduções nunca inferiores a 74% nos ensaios contaminados.



**Figura 3.5:** Produtividade média ( $\text{g.m}^{-2}$ ) das raízes da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação de zinco e chumbo.

De forma a conseguir analisar a suscetibilidade das plantas à contaminação por metais pesados são apresentados os valores do Índice de Tolerância (IT) obtidos nos ensaios nestes ensaios (Tabela 3.3).

**Tabela 3.3:** Índice de tolerância (IT) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* nos ensaios contaminados com zinco ou chumbo.

Cultura	Fração	IT (Zn 1)	IT (Zn 2)	IT (Pb 1)	IT (Pb 2)
<i>B. carinata</i>	biomassa aérea	0,78	0,80	0,93	0,97
<i>T. arvense</i>	biomassa aérea	0,41	0,30	0,46	0,35

De acordo com estes resultados, a contaminação dos solos com zinco ou chumbo afetou a normal produtividade das duas culturas, sendo que o IT foi sempre inferior a um ( $<1$ ). Contudo, o grau de afetação foi significativamente diferente entre culturas, com a *B. carinata* a exibir uma maior adaptação em solos contaminados com metais pesados que a *T. arvense*. De facto, *T. arvense* sofreu fortes reduções na sua produtividade, como demonstram os valores de IT, todos inferiores a 0,46. Assim, a máxima produtividade alcançada por esta cultura foi verificada no ensaio de chumbo em menor concentração (Pb 1), representando apenas 46% da produtividade obtida no controlo. Os valores do IT na *T. arvense* não revelaram grandes diferenças entre os ensaios com zinco e os ensaios com chumbo, podendo assim afirmar-se que esta espécie respondeu de forma semelhante a ambos os metais, no que diz respeito à produtividade. A contaminação dos solos em maiores doses conduziu a rendimento ainda mais baixos. Relativamente à *B. carinata*, registaram-se valores do IT muito próximos a 1 nos ensaios contaminados com chumbo (IT mínimo foi 0,93), revelando pouca suscetibilidade à presença deste elemento no solo. Nos ensaios contaminados com zinco, apesar de se verificar uma redução na produtividade, o rendimento produtivo da biomassa aérea é no mínimo 78%, continuando a ser um valor ainda interessante. Além disto, tal como ocorrido nos ensaios com chumbo, os valores de IT permanecem semelhantes (chegando mesmo a aumentar ligeiramente) com uma crescente

contaminação, mostrando que esta espécie pode ser encarada como tolerante à contaminação com estes metais pesados. A tolerância das plantas à contaminação por metais pesados depende de um grande número de fatores e varia significativamente entre as espécies vegetais. Vários mecanismos fisiológicos podem explicar esta tolerância, sendo que as plantas podem ser protegidas externamente contra o metal, ou então tolerar altas concentrações destes elementos nos seus tecidos, através de mecanismos fisiológicos específicos que levam à minimização da sua fitotoxicidade (Barbosa et al., 2018).

### **3.2.3. Parâmetros químicos**

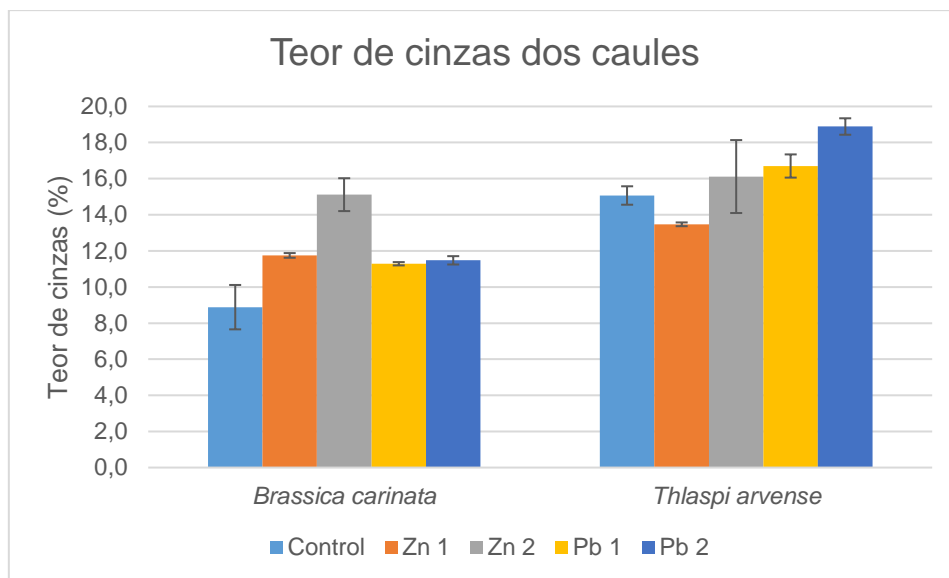
#### **3.2.3.1. Teor de cinzas**

Neste ponto, segue-se uma análise ao teor de cinzas (% matéria seca) presente em diferentes frações das culturas em estudo. Esta caracterização permite obter um conhecimento acerca da qualidade da biomassa e das suas potenciais utilizações para produção de energia.

Um alto teor de cinzas não é desejável, tendo em conta que pode aumentar os custos da sua eliminação e dos custos associados à degradação de equipamento de conversão termoquímica da biomassa (Barbosa et al., 2016).

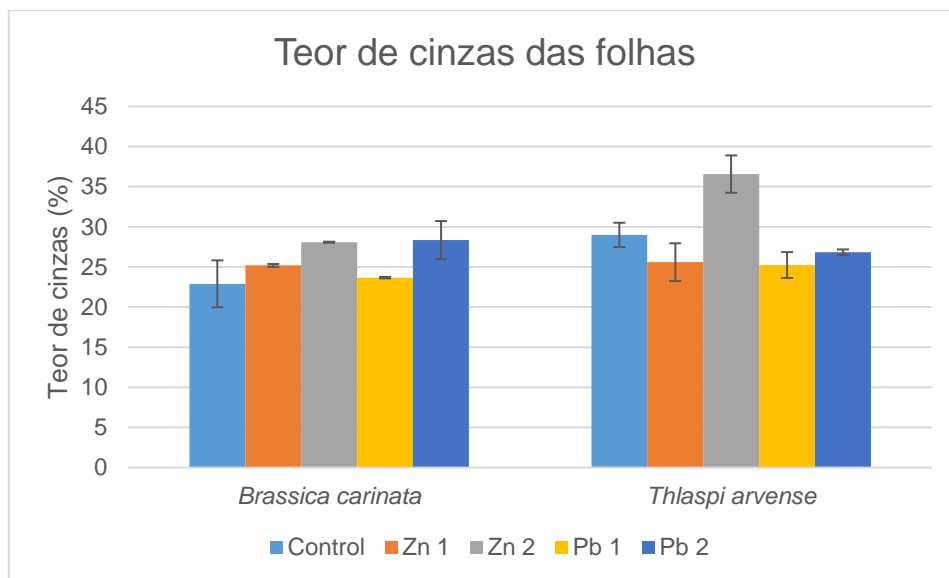
Os caules representam a fração mais interessante das plantas para valorização energética, nomeadamente para processos de combustão. Na Figura 3.6 são apresentados os teores de cinzas registados nos caules da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense*. Ao contrário do que se verificava na produtividade dos caules, onde todos os ensaios da *B. carinata* registaram produtividades médias superiores aos ensaios da *T. arvense*, aqui acontece a situação inversa, ou seja, verifica-se um maior teor de cinzas em todos os ensaios da *T. arvense*. Na *B. carinata*, todas as contaminações de zinco e chumbo apresentaram um teor de cinzas superior ao registado no ensaio de controlo (8,9%). O ensaio com contaminação com zinco no dobro da concentração permitida por lei (Zn 2) foi a que se diferenciou mais em relação às restantes contaminações, atingindo um de teor de cinzas de 15,1%. Na *T. arvense* não se verificaram valores de teor de cinzas muito diferentes entre o ensaio de controlo (15,1%) e os ensaios contaminados com metais pesados, com exceção do ensaio contaminado com maior concentração de chumbo (Pb 2), registando-se um teor de cinzas máximo de 18,9%. Para ambas as culturas, pode ser possível estabelecer uma relação entre o teor de cinzas registado e a produtividade. Nos ensaios contaminados das duas culturas tinham-se verificado produtividades inferiores ou semelhantes ao controlo. Analisando agora os teores de cinzas, verifica-se que os ensaios onde se verificou maior redução da produtividade devido à contaminação, também foram os ensaios onde se observou, de uma forma global, maior valor neste parâmetro. Significa que pode ter havido um efeito de concentração no teor de cinzas devido à redução da produtividade.





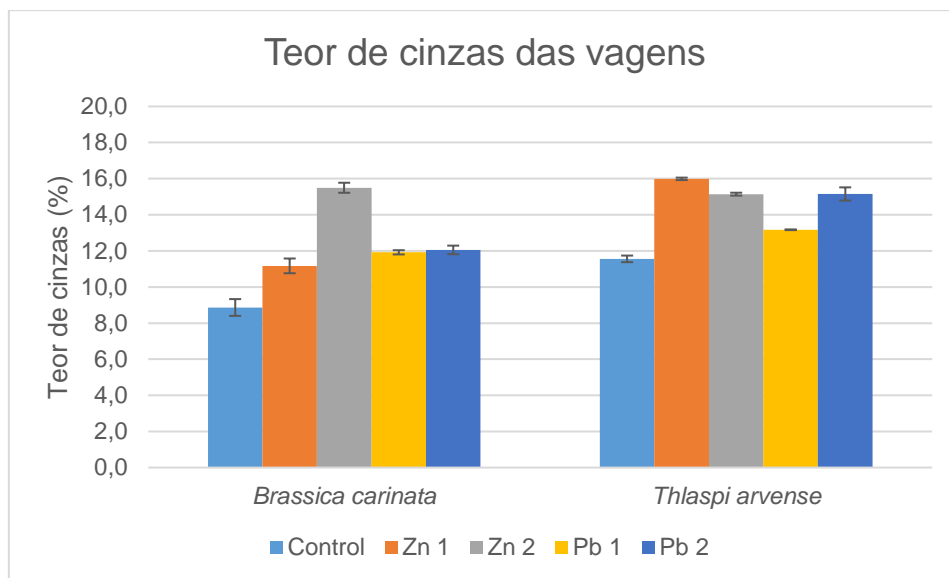
**Figura 3.6:** Teor de cinzas dos caules (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

O teor de cinzas presente nas folhas das duas culturas em estudo é apresentado na Figura 3.7. Ambas as culturas apresentaram um maior teor de cinzas nas folhas em comparação com o que tinha sido registado nos caules. Tal como nos caules, também nas folhas se verifica em geral um maior teor de cinzas na *T. arvense* do que na *B. carinata*, embora aqui as diferenças sejam menores e limitadas a certos ensaios. Passando agora à análise individual de cada uma das espécies, algo que se pode observar é que, do mesmo modo que tinha sido verificada uma semelhança na produtividade das folhas entre o ensaio controlo e os ensaios contaminados, o mesmo se constata agora para o teor de cinzas, com exceção de alguns casos. Na *B. carinata* é observável um teor de cinzas mais elevado nos ensaios com maiores concentrações de zinco e chumbo, Zn 2 e Pb 2, ambos com um teor de 28%. No caso dos ensaios com concentrações no limite permitido por lei (Zn 1 e Pb 1) os teores de cinzas foram bastante semelhantes ao valor obtido no controlo, onde se registou um teor de 23%. No que se refere à *T. arvense*, é possível verificar que nos ensaios com contaminação de zinco no dobro da concentração (Zn 2), o teor de cinzas de 37% é bastante mais elevado do que o registado no controlo (29%) e restantes ensaios contaminados, os quais apresentaram valores semelhantes entre si, com teores de cinzas ligeiramente inferiores ao controlo.



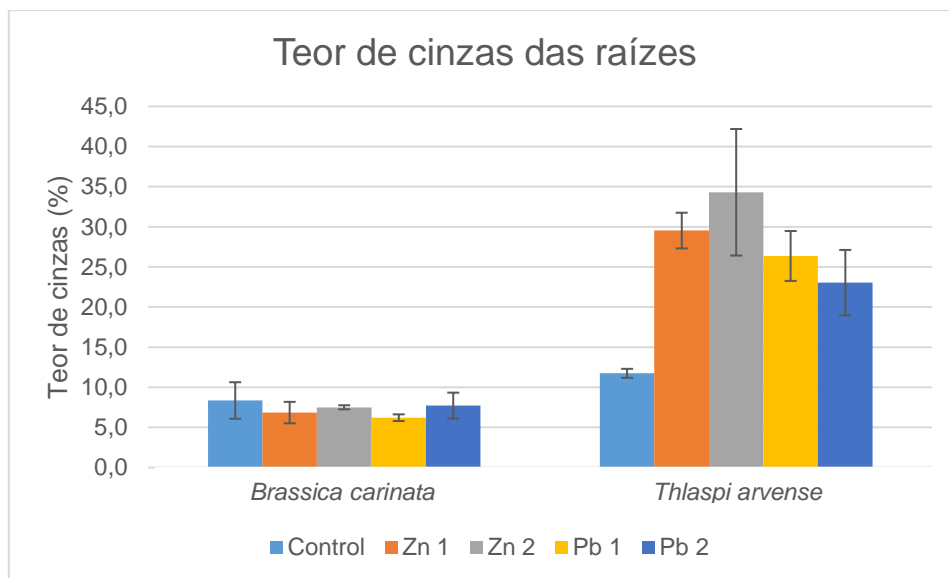
**Figura 3.7:** Teor de cinzas das folhas (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

Na figura 3.8 são apresentados os resultados para o teor de cinzas das vagens da *B. carinata* e *T. arvense*. Nestas estruturas, os teores de cinzas registados aproximaram-se de uma forma global dos resultados obtidos nos caules, sendo este facto ainda mais evidente na *B. carinata*. Desta forma, e tal como já tinha sido verificado também nos caules, os teores de cinzas em praticamente todos os ensaios da *T. arvense* foram superiores aos registados na *B. carinata*. Para ambas as culturas é visível a influência que as contaminações com zinco e chumbo tiveram no teor de cinzas em relação ao controlo, visto que, em todos estes ensaios foi verificado um maior conteúdo em cinzas do que nos ensaios de controlo. Na *B. carinata*, à semelhança com o que se tinha verificado nos caules e nas folhas, o ensaio contaminado com a maior concentração de zinco (Zn 2) foi onde se observou um maior teor de cinzas (15,5%), sendo este valor bastante superior ao teor de 8,9% registado no ensaio de controlo. Tal como na *B. carinata*, em todos os ensaios da *T. arvense* contaminados com os metais pesados em estudo, registaram-se teores superiores ao controlo (11,6%), com destaque para ambos os ensaios de zinco (Zn 1 e Zn 2) e o ensaio com chumbo no dobro da concentração limite (Pb 2). Nesta cultura o ensaio Zn 1 foi aquele onde se registou um maior teor de cinzas, 16%.



**Figura 3.8:** Teor de cinzas das vagens (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

Na Figura 3.9 são apresentados os teores de cinzas registados nas raízes da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense*. Tal como se tinha observado nas restantes estruturas, também nas raízes se verifica um maior teor de cinzas em todos os ensaios da *T. arvense* do que na *B. carinata*. Além disso, foi precisamente nas raízes que esta diferença foi mais expressiva. Nas raízes da *B. carinata* não se verifica o cenário observado para os caules, folhas e vagens, no qual os ensaios contaminados apresentavam maiores teores de cinzas do que o ensaio controlo. De facto, o controlo é o que regista o valor máximo nesta cultura (8,4%), seguindo-se as contaminações de zinco e chumbo em concentração mais elevada e por fim, os ensaios Zn 1 e Pb 1. O valor mínimo ocorreu no ensaio Pb 1 com 6,2%, permitindo perceber que não foram registadas diferenças muito significativas entre os ensaios desta espécie. Relativamente à *T. arvense*, a disparidade de valores entre os ensaios contaminados e o controlo foi evidente, registando-se teores muito superiores na presença de zinco ou chumbo. Curiosamente, nos dados já analisados de produtividade das raízes tinha sido verificado precisamente o oposto, ou seja, valores de produtividade bastante baixos nos ensaios com metais pesados. Nesta cultura, na comparação efetuada entre os ensaios contaminados foram observados maiores teores de cinzas nas raízes para os ensaios com zinco. De facto, o teor de cinzas mais elevado ocorreu no ensaio com concentração mais alta de zinco (34,3%), enquanto o Pb 2 foi de todos os ensaios contaminados aquele que apresentou valor mais baixo (23,0%). No entanto, como já foi referido, o teor de cinzas mínimo nas raízes desta cultura foi registado no ensaio controlo, com 11,7%.



**Figura 3.9:** Teor de cinzas das raízes (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

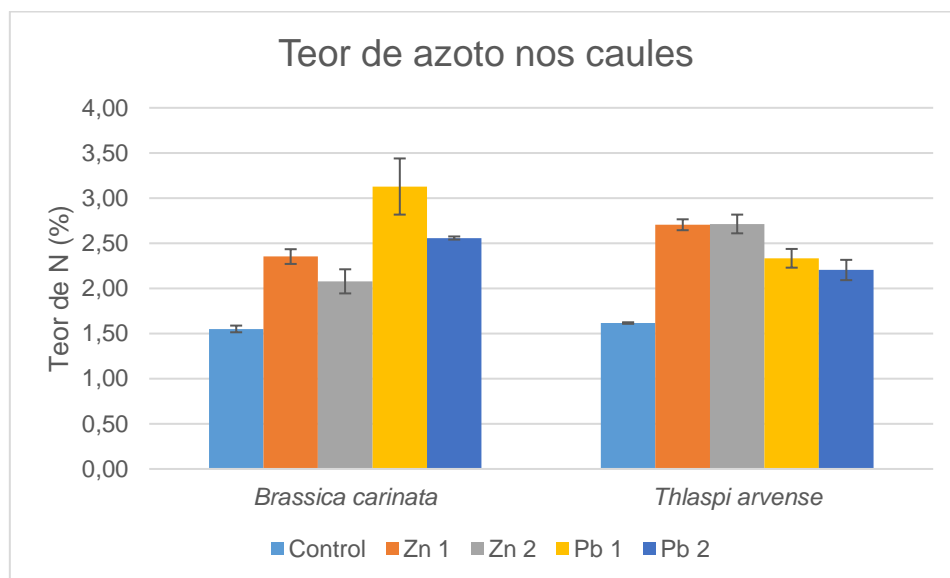
### 3.2.3.2. Teor de azoto

Segue-se uma análise à quantidade de azoto (% N, matéria seca) presente nos caules, folhas e vagens da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense*. Este é mais um parâmetro que permite caracterizar a qualidade da biomassa, especialmente para fins energéticos.

Um elevado teor de azoto na biomassa pode limitar a sua utilização, por exemplo para combustão, visto que, está associado a um possível aumento das emissões de óxidos de azoto (NO<sub>x</sub>), contribuindo para a acidificação (Barbosa et al., 2016; Gomes et al., 2018).

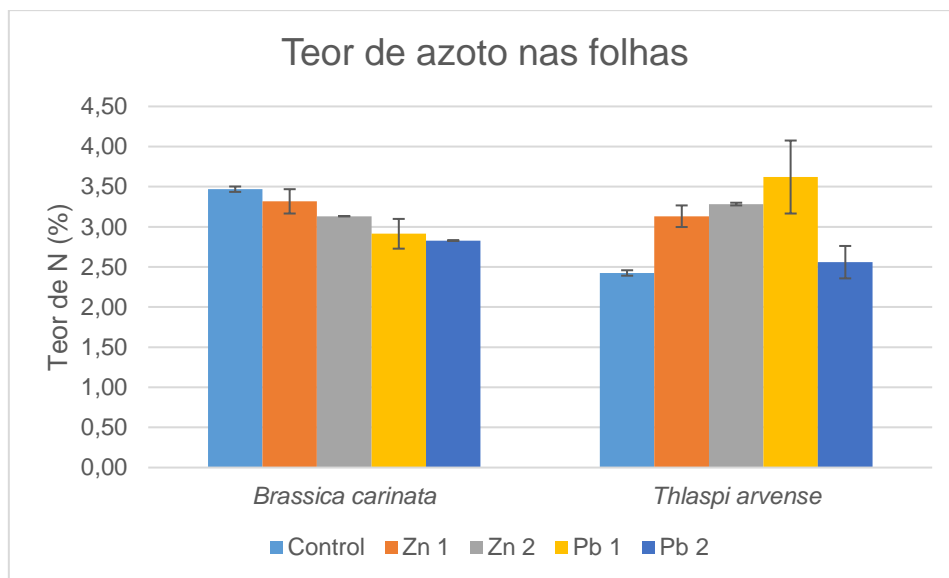
Os resultados obtidos nos caules da *Brassica carinata* e da *Thlaspi arvense* encontram-se na Figura 3.10. Tal como se tinha identificado no teor de cinzas dos caules, também aqui parece haver uma relação inversa entre o teor de azoto das plantas e as suas produtividades para ambas as culturas. Mais uma vez, o efeito concentração pode ajudar a justificar o facto de, para os ensaios contaminados com zinco e chumbo, todos valores do teor de azoto nos caules tenham superado de forma clara o ensaio controlo, enquanto nos resultados de produtividade dos caules, os ensaios contaminados tinham registado valores inferiores ao controlo. Comparando as duas culturas, para os ensaios contaminados com zinco foram observados teores de azoto ligeiramente inferiores na *B. carinata* do que na *T. arvense*, enquanto para os ensaios contaminados com chumbo esta relação se inverteu. Relativamente ao ensaio de controlo, os valores de teor de azoto registados são bastante semelhantes, 1,55% e 1,62%. Analisando agora cada uma das culturas, na *B. carinata* observou-se um maior teor de azoto na contaminação com chumbo do que nos ensaios contaminados com zinco, tendo sido no ensaio Pb 1 que se verificou o valor máximo, 3,13%. É também importante salientar que foram registadas diferenças entre os níveis de concentração introduzidos nos vasos, ocorrendo uma redução do teor de azoto nos ensaios com o dobro da concentração, para ambos os metais. No caso da *T. arvense*, os ensaios sujeitos à contaminação com zinco foram os que apresentaram um maior teor médio de azoto,

não se verificando diferenças entre o nível de contaminação, ou seja, os ensaios Zn 1 e Zn 2 foram muito semelhantes, registando-se 2,71% como o teor máximo de azoto nesta cultura.



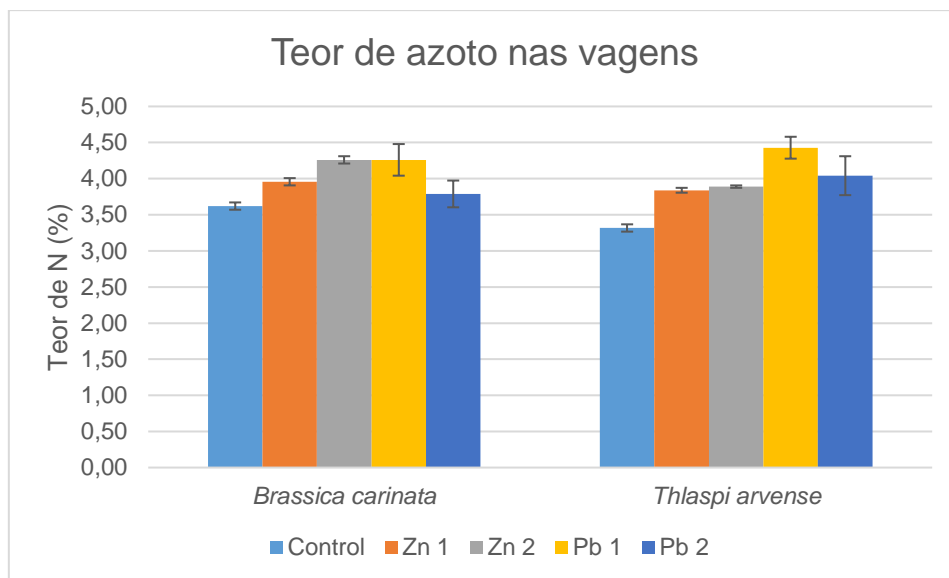
**Figura 3.10:** Teor de azoto nos caules (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

Na Figura 3.11 são apresentados os valores do teor de azoto presentes nas folhas das duas culturas. Contrariamente ao observado nos caules, para as folhas existem diferenças nos ensaios de controlo entre as duas culturas, registando-se 3,47% de teor de azoto na *B. carinata* e 2,42% na *T. arvense*. No caso da *B. carinata* este é o valor máximo de teor de azoto em comparação com os ensaios contaminados, enquanto na *T. arvense* o controlo foi o menor valor observado. Curiosamente, na *B. carinata* os teores de azoto aparentam uma relação inversa com a produtividade. De facto, os ensaios com chumbo foram os que apresentaram menor teor de azoto nas folhas, atrás dos ensaios com zinco e controlo, enquanto na produtividade esta ordenação foi contrária, ou seja, o ensaio controlo e de seguida os ensaios Zn 1 e Zn 2 registaram menores produtividades do que Pb 1 e Pb 2. O ensaio Pb 2 foi assim onde se verificou o menor teor de azoto nas folhas, 2,83%. Relativamente à *T. arvense* o valor máximo ocorreu no ensaio contaminado com a menor concentração de chumbo (3,62%), assinalando-se uma diferença considerável para o ensaio com o dobro da concentração (Pb 2), o qual registou 2,56%. No que se refere aos ensaios com zinco, os resultados obtidos foram semelhantes aos observados na *B. carinata*.



**Figura 3.11:** Teor de azoto nas folhas (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

O teor de azoto presente nas vagens das duas culturas em estudo é apresentado na Figura 3.12. Esta foi a fração de ambas as plantas onde se registaram os maiores teores de azoto. De uma maneira geral, os resultados obtidos nas duas culturas foram semelhantes entre si. Tanto para a *B. carinata* como para a *T. arvense*, os ensaios contaminados com metais pesados apresentaram valores superiores aos obtidos nos ensaios de controlo, nos quais se registaram teores de 2,62% e 3,32%, respetivamente. Na *B. carinata* os ensaios Zn 2 e Pb 1 foram onde se verificaram os mais altos teores de azoto, ambos com 4,16%. Tal como observado para os caules e as folhas, também aqui ocorreu uma quebra no teor de azoto quando a concentração foi elevada para o dobro, com exceção dos ensaios contaminados com zinco. Na *T. arvense* o ensaio Pb 2 foi o que apresentou um maior teor de azoto nas vagens (4,43%). Nesta cultura a diferença dos resultados entre níveis de contaminação seguiu a mesma tendência observada nos caules e folhas. Assim, para os ensaios contaminados com chumbo confirmou-se uma redução do teor de azoto em Pb 2 relativamente a Pb 1. Nos ensaios contaminados com zinco os resultados voltam a ser semelhantes entre Zn 1 e Zn 2, e tal como nos caules e folhas, um maior teor de azoto no ensaio com maior concentração nunca se sucede.

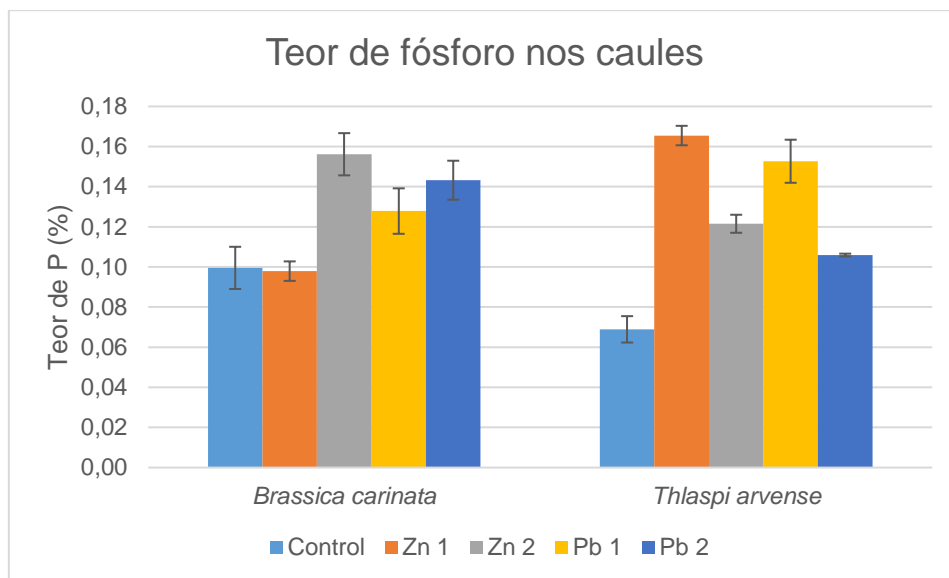


**Figura 3.12:** Teor de azoto nas vagens (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

### 3.2.3.3. Teor de fósforo

Neste ponto é efetuada uma análise ao teor de fósforo (% matéria seca) presente nas diferentes frações da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense*.

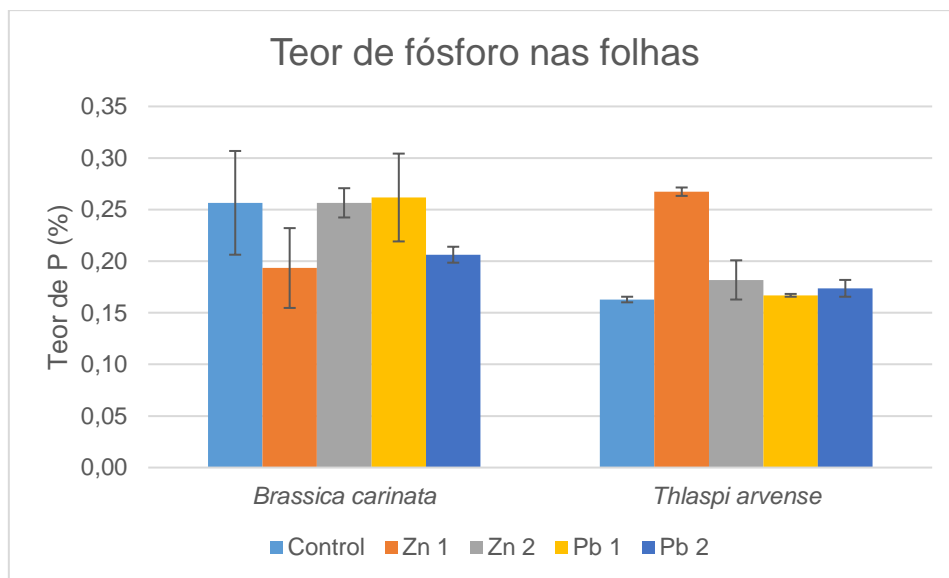
Na Figura 3.13 são apresentados os resultados do teor de fósforo nos caules das duas culturas em estudo. Uma das principais características que se pode destacar nesta análise é o facto de os ensaios contaminados com metais pesados, em ambas as culturas, apresentarem maior teor de fósforo que os ensaios controlo. Na *B. carinata* o valor mínimo registado foi exatamente no controlo, juntamente com o ensaio de zinco com menor concentração (Zn 1), ambos com 0,10%. O aumento da concentração nos ensaios de zinco e chumbo conduziu também ao aumento do teor de fósforo, correspondendo a estes ensaios (Zn 2 e Pb 2) os valores mais altos observados nesta cultura, com o máximo em Zn 2 (0,16%). No que concerne à *T. arvense* o ensaio controlo apresentou o menor teor de fósforo (0,07%). Ao contrário do verificado na *B. carinata*, os ensaios contaminados com o dobro da concentração sofreram uma redução no teor de fósforo relativamente a Zn 1 e Pb 1. Nesta cultura o valor mais elevado foi 0,17%, registado no ensaio Zn 1.



**Figura 3.13:** Teor de fósforo nos caules (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

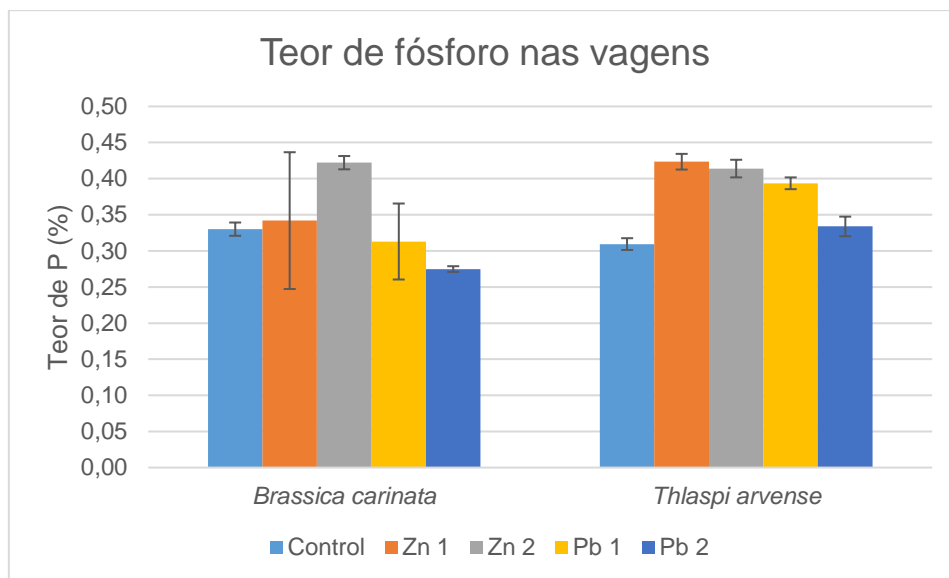
Os resultados obtidos nas folhas da *Brassica carinata* e da *Thlaspi arvense* encontram-se na Figura 3.14. Numa comparação entre as duas culturas, a maioria dos ensaios da *B. carinata* apresentaram teores de fósforo mais elevados que na *T. arvense*, excetuando o ensaio contaminado com menor concentração de zinco (Zn 1). Na *B. carinata* o teor de fósforo mais elevado foi 0,26%, registado nos ensaios de controlo, Zn 2 e Pb 1, e o valor mínimo observado ocorreu no ensaio Zn 1 (0,19%). Nesta cultura, a resposta ao nível de contaminação diferiu nos dois metais, tendo em conta que o aumento da concentração para o dobro, relativamente à concentração limite, conduziu a um aumento no teor de fósforo no ensaio com zinco e a uma diminuição no ensaio com chumbo. No que respeita à *T. arvense* o teor máximo ocorreu em Zn 1 (0,27%), sendo que os restantes ensaios contaminados apresentaram resultados semelhantes ao do ensaio controlo, o qual registou 0,16%. Analisando a resposta aos diferentes níveis de contaminação nesta cultura, verifica-se que no ensaio de zinco em maior concentração ocorreu uma redução relativamente a Zn 1, tal como sucedido nos caules, enquanto os ensaios de chumbo apresentaram o mesmo teor de fósforo para os dois níveis de concentração.





**Figura 3.14:** Teor de fósforo nas folhas (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

O teor de fósforo presente nas vagens das duas culturas em estudo é apresentado na Figura 3.15. Foram nestas estruturas, em ambas as culturas, que se registaram os maiores teores de fósforo, com valores ligeiramente superiores na *T. arvense* do que na *B. carinata*. Na *B. carinata* o teor máximo verificou-se no ensaio contaminado com zinco no dobro da concentração permitida por lei (Zn 2), sendo 0,42% de fósforo. Este resultado foi superior ao verificado no ensaio controlo, o qual registou um teor de 0,33%. Tal como observado nos caules e folhas, também nas vagens foi evidente o aumento do teor em fósforo no ensaio com dobro da concentração de zinco relativamente a Zn 1. Quanto aos ensaios com chumbo nesta cultura, ambos apresentaram teores ligeiramente inferiores ao controlo, com uma redução em Pb 2 comparativamente a Pb 1, tal como sucedido nas folhas. No que concerne à *T. arvense*, todos os ensaios contaminados apresentaram teores de fósforo superiores ao controlo, o qual registou um valor de 0,31%. O teor mais alto foi 0,42%, ocorrido no ensaio Zn 1, não tendo sido evidenciada uma diferença tão significativa relativamente a Zn 2, ao contrário do que se tinha verificado nos caules e folhas desta cultura. Os dados dos ensaios com chumbo indicam uma redução do teor de fósforo quando é elevada a concentração para o dobro, à semelhança do que foi verificado nos caules. Assim, o teor mais baixo ocorreu em Pb 2, com um conteúdo em fósforo de 0,33%.



**Figura 3.15:** Teor de fósforo nas vagens (% matéria seca) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo.

### 3.2.4. Metais

Neste ponto serão apresentados os resultados obtidos relativos à concentração média de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) e chumbo ( $\text{mg Pb.kg}^{-1}$ ) nos caules, folhas, vagens e raízes da *Brassica carinata* e da *Thlaspi arvense*, de acordo com o nível de contaminação aplicado. Através destes dados torna-se possível entender e avaliar a capacidade de cada uma das espécies para retirar estes metais do solo e acumulá-los nos seus tecidos.

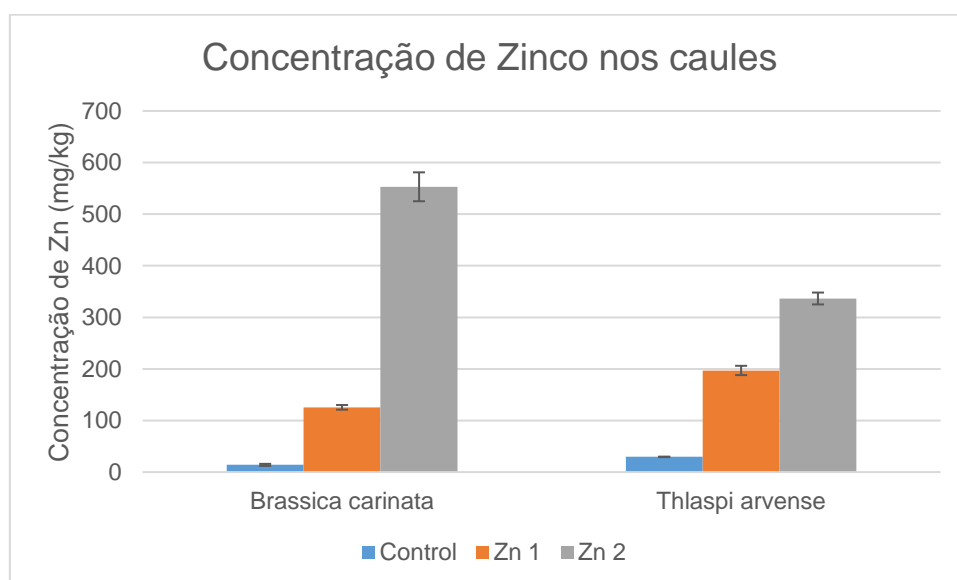
A análise dos teores de zinco e chumbo nas diferentes frações das duas culturas é também realizada recorrendo ao índice de acumulação (IA) e ao fator de translocação (FT). O IA é utilizado para avaliar a capacidade das plantas de absorver e acumular um determinado elemento em maiores quantidades do que o habitual, enquanto o FT permite avaliar a capacidade das plantas em translocar os metais para as frações aéreas. Valores acima de um ( $>1$ ) nestes parâmetros estão associados a plantas com potencial de utilização em fitoextração (Barbosa et al., 2015; Papazoglou & Fernando, 2017).

#### 3.2.4.1. Zinco

O zinco, tal como outros micronutrientes de plantas, pode limitar o crescimento quando está presente tanto em baixas concentrações como em concentrações excessivas, devido à deficiência e toxicidade, respetivamente.

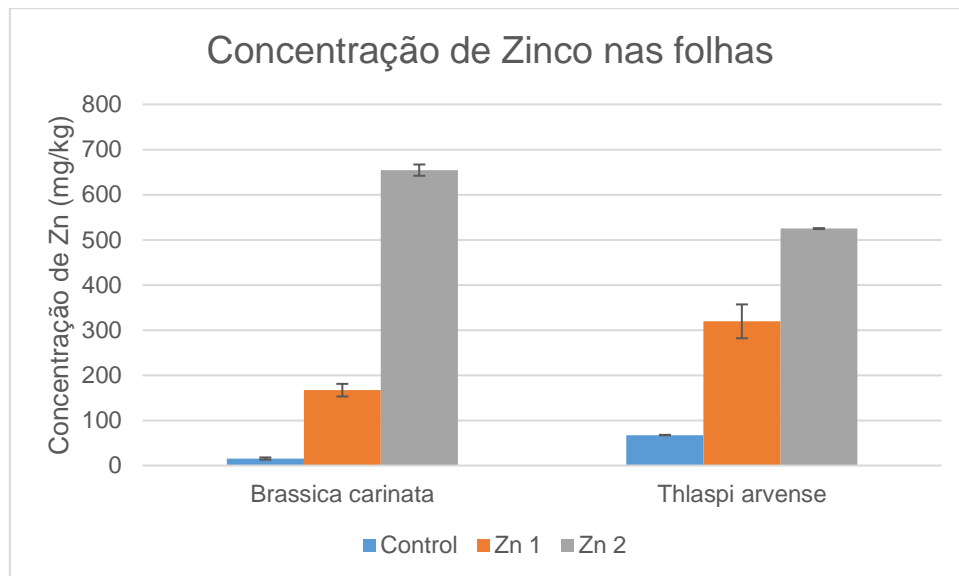
Neste caso, um solo foi contaminado com zinco em níveis diferentes de concentração (450 e 900  $\text{mg/kg}$  matéria seca), e é um meio indesejável para o crescimento de culturas alimentares pois o metal pode acumular ao longo da cadeia alimentar. Assim, torna-se importante identificar se estas duas culturas em estudo podem exibir uma boa capacidade de remediação deste solo, removendo quantidades consideráveis deste elemento, agindo como plantas fitoextratoras, ou se não acumulam este elemento mas apresentam tolerância à contaminação, fitoestabilizando a contaminação.

A concentração média de zinco presente nos caules da *Brassica carinata* e da *Thlaspi arvense* é apresentada na Figura 3.16. Como seria de esperar, observaram-se menores concentrações de zinco nos ensaios controlo, seguindo-se concentrações crescentes de zinco na biomassa com o aumento da contaminação do solo. Este aumento do teor zinco com o elevar da contaminação do solo demonstra que ambas as culturas são indicadoras de contaminação de zinco no solo. Este comportamento é típico de uma planta indicadora, a qual é caracterizada pelo facto de as concentrações internas refletirem as condições exteriores no solo (Barbosa et al., 2018). Desta forma, verifica-se uma maior acumulação deste metal nos caules para os ensaios Zn 2 de ambas as culturas. Comparando as duas espécies, a *B. carinata* demonstrou uma maior capacidade de retenção de zinco nos caules relativamente à *T. arvense*, como é demonstrado pelos valores obtidos no ensaio Zn 2, 553 mg Zn. kg<sup>-1</sup> na *B. carinata* e 337 mg Zn. kg<sup>-1</sup> na *T. arvense*. Contudo, na situação em que o solo se encontra com um menor nível de concentração (Zn 1), a *T. arvense* exibe maior teor de zinco nos caules (197 mg Zn. kg<sup>-1</sup>), embora aqui a diferença para a *B. carinata* não seja tão significativa, a qual apresenta 126 mg Zn. kg<sup>-1</sup>.



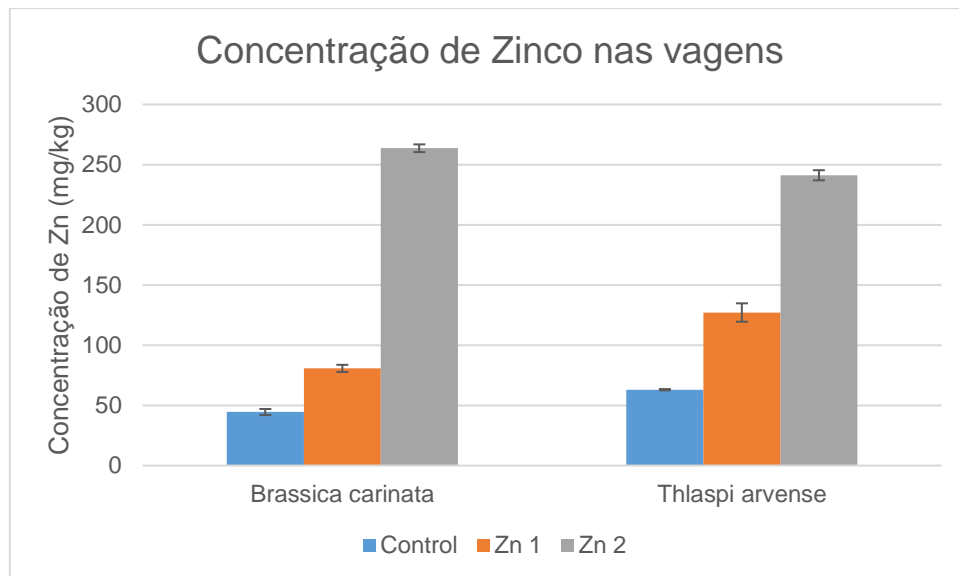
**Figura 3.16:** Concentração média de zinco (mg Zn.kg<sup>-1</sup>) nos caules da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com Zn.

Segue-se agora a análise da concentração de zinco nas folhas das duas culturas em estudo (Figura 3.17). Foi nesta estrutura da planta onde se observaram as maiores concentrações de zinco na *Brassica carinata* e na *Thlaspi arvense*. O facto de ambas as culturas terem transcolado este metal maioritariamente para as folhas sugere que este elemento apresenta uma boa mobilidade. Também nesta estrutura se verificaram teores de zinco mais elevados com o aumento da contaminação do solo. Deste modo, foram nos ensaios Zn 2 que se registaram as maiores concentrações de zinco nas folhas, sendo que tal como se constatou nos caules, nestes ensaios a *B. carinata* manifestou uma maior aptidão para acumular este elemento (655 mg.kg<sup>-1</sup>) relativamente à *T. arvense* (525 mg.kg<sup>-1</sup>). No que diz respeito aos ensaios com contaminação inferior (Zn 1) verificou-se, tal como nos caules, maior teor de zinco na *T. arvense* (320 mg.kg<sup>-1</sup>) que na *B. carinata* (167 mg.kg<sup>-1</sup>).



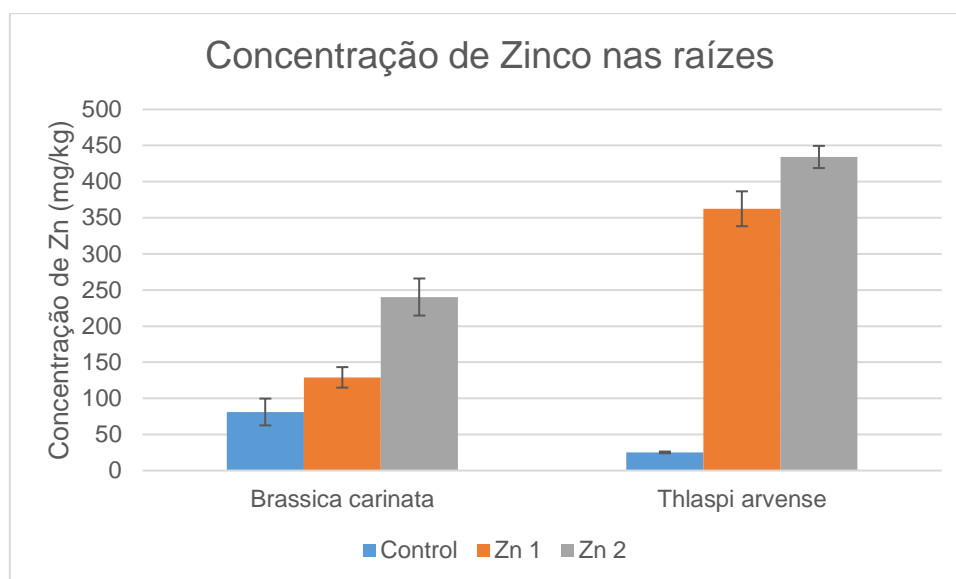
**Figura 3.17:** Concentração média de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nas folhas da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com Zn.

Na Figura 3.18 são apresentados os valores de concentração média obtidos nas vagens da *Brassica carinata* e na *Thlaspi arvense*. Identicamente às restantes estruturas, o aumento da contaminação do solo com zinco conduziu também ao aumento acentuado da acumulação deste metal nas vagens, algo que é facilmente identificável pela observação das diferenças entre os ensaios controlo (onde não foi introduzida qualquer contaminação artificial), Zn 1 e Zn 2. Um dos aspetos que se pode destacar é o facto de ser nesta fração da planta que registaram de forma geral os menores teores de zinco para ambas as culturas. Nas vagens também foi possível perceber as distintas capacidades de acumulação deste elemento por parte das culturas, dependendo do nível de contaminação do solo. Aqui é perceptível a maior capacidade da *T. arvense* em reter zinco nos seus tecidos no ensaio Zn1 em comparação com *B. carinata*, registando-se valores de  $127 \text{ mg.kg}^{-1}$  e  $81 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respetivamente. Quando a contaminação aumentou para o dobro (Zn 2) as duas culturas exibiram concentrações de zinco semelhantes, com ligeira superioridade na *B. carinata*, mas longe das diferenças evidentes já comentadas para os caules e folhas.



**Figura 3.18:** Concentração média de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nas vagens da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com Zn.

Na análise dos resultados relativos à concentração de zinco nas duas culturas, é por último apresentado o valor deste parâmetro presente nas raízes (Figura 3.19). Como se pode perceber, mantém-se o padrão de maiores concentrações de zinco nas plantas com o aumento da contaminação do solo com este elemento. Uma vez mais, para os ensaios Zn 1, é evidenciada a capacidade da *T. arvense* em acumular maiores concentrações de zinco que a *B. carinata*, como comprovam os valores  $362 \text{ mg.kg}^{-1}$  e  $129 \text{ mg.kg}^{-1}$  nas raízes, respetivos a cada uma das culturas. É importante salientar que para todas as frações da planta, no nível mais baixo de contaminação do solo (Zn 1), a *T. arvense* apresentou maiores concentrações em zinco que a *B. carinata*. No entanto, isto não significa que possua uma maior capacidade de acumulação de zinco, visto que, esta conclusão só pode ser feita quando é tomada em consideração a concentração obtida no controlo, algo que será discutido mais à frente, através do cálculo do índice de acumulação. Relativamente à situação em que a contaminação do solo é aumentada para o dobro (Zn 2), contrariamente ao analisado para os caules, folhas e sementes, nas raízes dos ensaios Zn 2 foi registada uma maior concentração de zinco na *T. arvense* que na *B. carinata*, com valores de  $434 \text{ mg.kg}^{-1}$  e  $240 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respetivamente. Comparando com as restantes estruturas, a concentração verificada nas raízes da *T. arvense* apesar de ser superior à observada nos caules e vagens, consegue ser inferior à concentração presente nas folhas, demonstrando assim potencial para translocar o zinco para esta estrutura. Neste aspeto o grande destaque vai para a *B. carinata*, na qual a concentração registada na raiz é a mais baixa entre todas as estruturas no ensaio Zn 2, sendo mesmo inferior ao teor de zinco verificado nas vagens, o que comprova a sua adaptabilidade a este meio altamente contaminado e à capacidade de translocação deste elemento para a parte aérea. De facto, enquanto em Zn 1 esta cultura apresentava concentrações equilibradas entre todas as estruturas, em Zn 2 (dobro da contaminação do solo) o normal aumento da concentração nas raízes foi acompanhado por aumentos em maior proporção nas estruturas aéreas da planta.



**Figura 3.19:** Concentração média de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nas raízes da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com Zn.

De seguida, para uma melhor percepção destes resultados e discussão de algumas das hipóteses já consideradas, são apresentados o índice de acumulação (IA) e o fator de translocação (FT) nas tabelas 3.4 e 3.5, respetivamente.

**Tabela 3.4:** Índice de acumulação (IA) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* em solos contaminados com zinco

Cultura	Fração	IA (Zn 1)	IA (Zn 2)
<i>B. carinata</i>	caules	8,96	39,50
<i>B. carinata</i>	folhas	10,77	42,23
<i>B. carinata</i>	vagens	1,82	5,93
<i>B. carinata</i>	raízes	1,59	2,96
<i>T. arvense</i>	caules	6,68	11,41
<i>T. arvense</i>	folhas	4,73	7,78
<i>T. arvense</i>	vagens	2,02	3,83
<i>T. arvense</i>	raízes	14,42	17,27

Observando com atenção os valores do IA para todas as frações das duas culturas fica evidente a boa capacidade para acumular zinco, demonstrada por ambas. O menor valor de IA ocorreu nas raízes do ensaio Zn 1 da *B. carinata*, sendo 1,59. Recorde-se que que um IA acima de um ( $>1$ ) é um bom indicador de uma possível capacidade da planta em reter o metal nos seus tecidos. É importante salientar que nos ensaios com maior contaminação (Zn 2) foram sempre registados maiores valores de IA relativamente a Zn 1, para ambas as culturas e respetivas frações. Desde logo se percebe que a *B. carinata* apresentou uma maior aptidão para acumular o zinco nas frações aéreas, especialmente caules e folhas, com IA em Zn2 de 39,50 e 42,23, respetivamente. Estes representaram os maiores valores de IA não só para esta cultura, mas também quando comparados com os observados na *T.*

*arvense*. No caso da *T. arvense*, esta manifestou maior capacidade acumuladora nas raízes, contrastando assim com o comportamento da *B. carinata*. As vagens foram a fração que apresentou menores IA nesta cultura, sendo que já na *B. carinata* os valores não tinham sido tão elevados como o observado nas restantes estruturas aéreas. A *B. carinata* demonstrou um potencial de fitoextração maior que a *T. arvense*, uma vez que o IA das frações aéreas é maior, assim como a sua produtividade. Como a parte aérea é a que é removida do solo, nessa altura são também removidos os metais do solo pela fitoextração.

**Tabela 3.5:** Fator de translocação (FT) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* em solos contaminados com zinco

Cultura	Fração	FT (Zn 1)	FT (Zn 2)
<i>B. carinata</i>	caules	0,97	2,30
<i>B. carinata</i>	folhas	1,29	2,72
<i>T. arvense</i>	caules	0,54	0,78
<i>T. arvense</i>	folhas	0,88	1,21

Relativamente à capacidade de translocação de zinco das raízes para as os caules e folhas, de um modo geral não foram alcançados valores de FT muito elevados. A *B. carinata* foi a cultura que demonstrou maior aptidão neste campo. Este cenário é confirmado principalmente nos ensaios Zn 2, onde o valor mínimo obtido de FT foi 2,30 para os caules. No caso da *T. arvense* o mesmo não se verifica. De facto, apenas nas folhas do ensaio Zn 2 se verifica um valor de FT >1, acabando por não assumir grande relevância tendo em conta que não é muito superior a um. À semelhança com o verificado no índice de acumulação, também para o fator de translocação se registaram maiores valores em todas estruturas, de ambas as culturas, nos ensaios com maior nível de contaminação. A *B. carinata* mostrou maior capacidade para translocar o zinco do que a *T. arvense*, ficando mais uma vez comprovado o seu potencial de fitoextração de zinco dos solos.

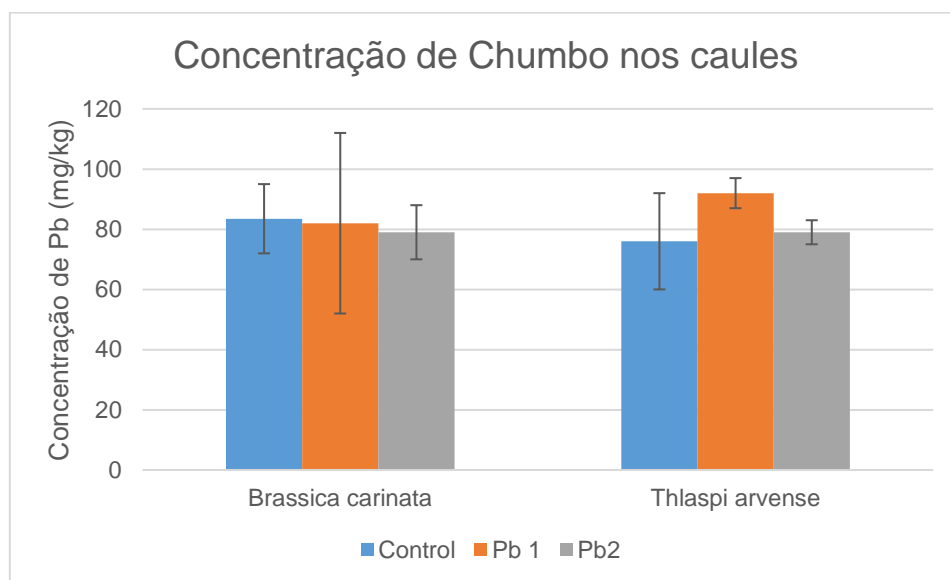
#### 3.2.4.2. Chumbo

Embora o chumbo ocorra naturalmente em todas as plantas, até ao momento não foi demonstrado que desempenhe qualquer papel essencial no seu metabolismo. Desta forma, este metal pesado constituiu-se como um elemento que exhibe toxicidade mesmo em concentrações muito baixas, sendo considerado como um dos maiores poluentes metálicos no ambiente. Normalmente, apenas uma pequena percentagem do seu conteúdo em solução do solo está disponível para as plantas e a sua translocação das raízes para as partes superiores é limitada (Kabata-Pendias, 2011).

Tendo em conta os efeitos negativos provocados pela contaminação de solos com chumbo, é essencial que sejam identificadas culturas com capacidade de remediação do solo através da remoção deste elemento do meio. Seguem-se os resultados obtidos para as duas culturas oleaginosas em estudo, nos diferentes níveis de contaminação com chumbo aplicados ao solo (450 e 900 mg/kg matéria seca).

As concentrações médias registadas nos caules da *Brassica carinata* e na *Thlaspi arvense* são apresentadas na Figura 3.20. Os resultados obtidos nesta fração são muito semelhantes entre os ensaios e entre as duas culturas. A presença de chumbo também no ensaio controlo pode ser resultante

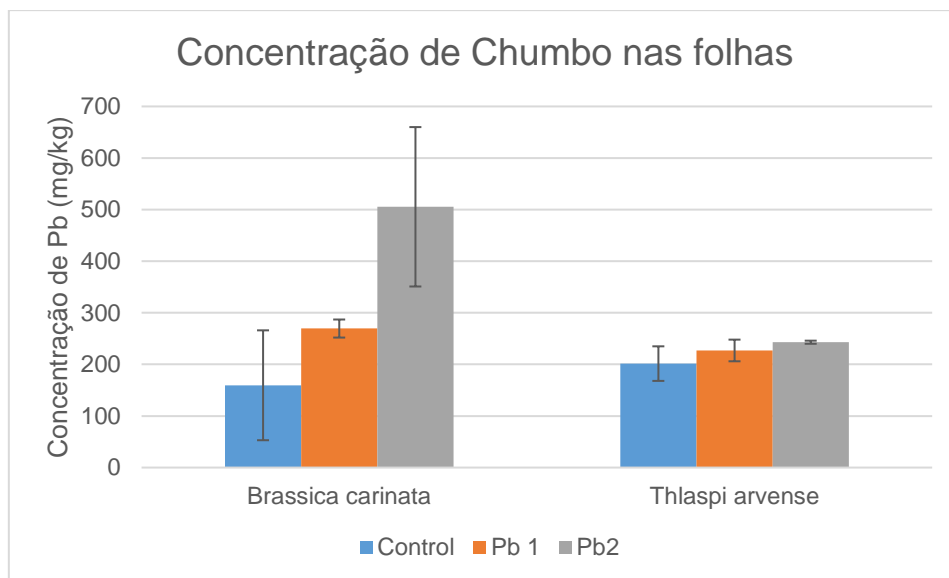
de anteriores deposições deste elemento no local de onde foi retirado o solo utilizado neste estudo. O facto de no controlo serem registadas concentrações idênticas aos ensaios Pb 1 e Pb 2 pode ser justificado pela baixa capacidade demonstrada pelas duas culturas em fitoextrair este metal dos solos, mesmo quando houve aumento da contaminação do solo. Isto permite concluir que a quantidade de chumbo no solo não interfere com a normal acumulação deste elemento nos caules. O facto destas duas oleaginosas não serem indicadoras de chumbo no solo, explica-se pela falta de mobilidade deste elemento.



**Figura 3.20:** Concentração média de chumbo ( $\text{mg Pb.kg}^{-1}$ ) nos caules da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com Pb.

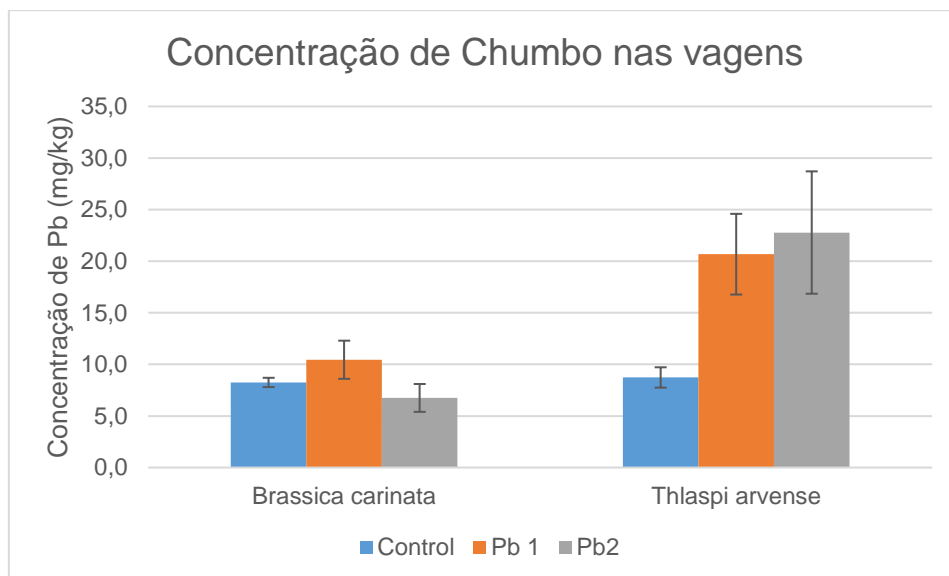
Segue-se agora a análise da concentração de chumbo nas folhas das duas culturas em estudo (Figura 3.21). Contrariamente ao observado nos caules, nas folhas é possível observar diferenças significativas entre espécies e também entre ensaios. Apesar de se ter verificado em ambas as culturas um aumento da concentração de chumbo nas folhas com a introdução de maiores quantidades deste elemento no solo, esta situação só foi mais significativa na *B. carinata*, principalmente em Pb 2. Neste ensaio, a cultura registou um teor de chumbo de  $506 \text{ mg.kg}^{-1}$ , contrastando com os  $270 \text{ mg.kg}^{-1}$  e  $160 \text{ mg.kg}^{-1}$  verificados em Pb 1 e controlo, respetivamente. No caso da *T. arvense* as diferenças entre ensaios foram muito ligeiras. Nos ensaios contaminados esta cultura apresentou menores concentrações que a *B. carinata*, sendo esta diferença mais notória em Pb 2, no qual registou um teor em chumbo nas folhas de  $243 \text{ mg.kg}^{-1}$ .





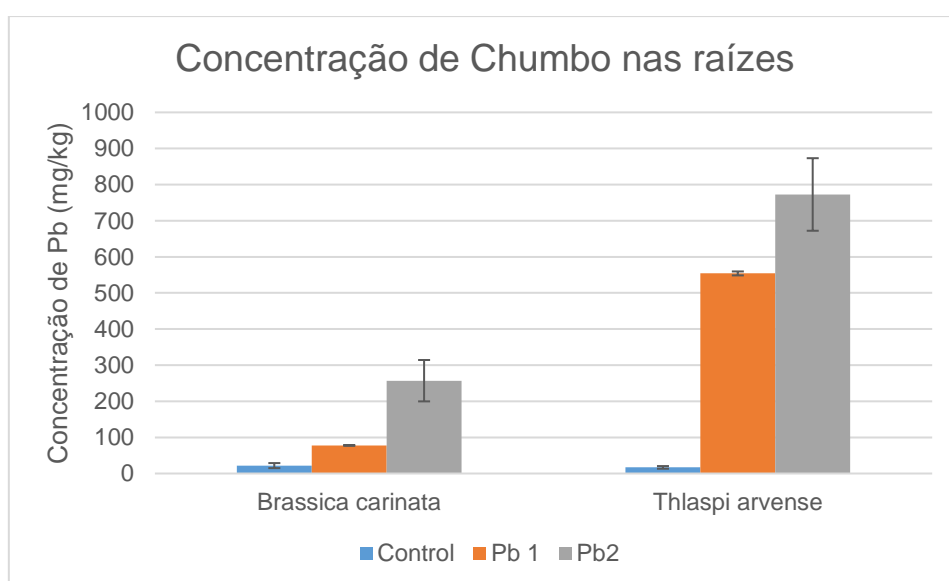
**Figura 3.21:** Concentração média de chumbo ( $\text{mg Pb.kg}^{-1}$ ) nas folhas da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com Pb.

Na Figura 3.22 são apresentados os valores de concentração média de chumbo obtidos nas vagens da *Brassica carinata* e da *Thlaspi arvense*. Foi nestas estruturas que se registaram os menores teores de chumbo em ambas as culturas, sendo a baixa mobilidade deste elemento uma possível justificação para o sucedido. Em contraste com o que foi observado nas folhas, aqui a *T. arvense* foi a cultura que acumulou maiores concentrações de chumbo. O nível mais baixo de contaminação do solo com chumbo conduziu a um aumento pouco significativo do teor deste elemento na *B. carinata*, sendo que, o aumento da contaminação para o dobro chegou mesmo a provocar uma descida deste parâmetro. No que diz respeito à *T. arvense*, foram observadas concentrações crescentes de chumbo nas vagens com o aumento da contaminação do solo, apesar de não se verificar uma diferença muito significativa entre os ensaios Pb 1 e Pb2, com teores em chumbo de  $20,7 \text{ mg.kg}^{-1}$   $22,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ , respetivamente.



**Figura 3.22:** Concentração média de chumbo (mg Pb.kg<sup>-1</sup>) nas vagens da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com Pb.

Na análise dos resultados relativos à concentração de chumbo nas duas culturas, é por último apresentado o valor deste parâmetro presente nas raízes (Figura 3.23). A contaminação dos solos conduziu a concentrações crescentes deste elemento nas raízes de ambas as culturas. Assim, nas raízes, estas duas culturas são indicadoras de contaminação com chumbo. Esta situação foi mais evidente nos ensaios da *T. arvense* e no ensaio Pb 2 da *B. carinata*. Este foi o local preferencial da *T. arvense* para reter este metal, atingindo concentrações de 554 mg.kg<sup>-1</sup> e 773 mg.kg<sup>-1</sup> em Pb 1 e Pb 2, respetivamente. Isto pode ser causado por um efeito de concentração, tendo em conta a baixa produtividade alcançada nas raízes desta cultura. Por outro lado, a *B. carinata* apresentou teores mais baixos, sendo que a concentração máxima nesta cultura foi observada em Pb 2 com 257 mg.kg<sup>-1</sup>.



**Figura 3.23:** Concentração média de chumbo (mg Pb.kg<sup>-1</sup>) nas raízes da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com Pb.

A interpretação destes resultados pode agora ser complementada com a aplicação do índice de acumulação (IA) e do fator de translocação (FT). O IA e o FT são apresentados na Tabela 3.6 e 3.7, respetivamente.

**Tabela 3.6:** Índice de acumulação (IA) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* em solos contaminados com chumbo.

Cultura	Fração	IA (Pb 1)	IA (Pb 2)
<i>B. carinata</i>	caules	0,98	0,95
<i>B. carinata</i>	folhas	1,69	3,17
<i>B. carinata</i>	vagens	1,27	0,82
<i>B. carinata</i>	raízes	3,55	11,72
<i>T. arvense</i>	caules	1,21	1,04
<i>T. arvense</i>	folhas	1,13	1,21
<i>T. arvense</i>	vagens	2,37	2,61
<i>T. arvense</i>	raízes	32,63	45,51

Relativamente aos resultados de IA obtidos, é reconhecida uma baixa capacidade de acumulação de chumbo nas frações aéreas das duas culturas, tendo em conta que a maioria dos valores de IA nestas estruturas é inferior ou aproximadamente igual a um. Apenas se verificaram valores superiores de IA nas folhas de *B. carinata* e de vagens de *T. arvense*. Adicionalmente, o aumento da contaminação dos solos nem sempre resultou em maior IA nestas estruturas. De facto, não se verificaram valores de IA superiores em Pb 2 que em Pb1 nas vagens da *B. carinata* e nos caules das duas culturas. Destas frações, os valores de IA mais elevados foram encontrados nas vagens da *T. arvense* e nas folhas do ensaio Pb 2 da *B. carinata*, sendo este último o IA máximo verificado nas frações aéreas, com um valor de 3,17. Desta forma, ambas as culturas em estudo manifestaram maior aptidão para acumular o chumbo nas suas raízes, principalmente a *T. arvense*, na qual se verificou um IA mínimo de 32,63 no ensaio Pb 1. Tendo em conta que nenhuma das culturas se destacou em relação à outra na capacidade de acumulação de chumbo nas frações aéreas, a comparação acaba por ser baseada nos valores IA registados na estrutura subterrânea das plantas. Assim, pode afirmar-se que *T. arvense* demonstrou maior capacidade para acumular este elemento que a *B. carinata*, levando em consideração os valores de IA significativamente superiores nas raízes.

**Tabela 3.7:** Fator de translocação (FT) da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* em solos contaminados com chumbo.

Cultura	Fração	FT (Pb 1)	FT (Pb 2)
<i>B. carinata</i>	caules	1,05	0,31
<i>B. carinata</i>	folhas	3,46	1,97
<i>T. arvense</i>	caules	0,17	0,10
<i>T. arvense</i>	folhas	0,41	0,31

No que diz respeito à capacidade de translocação de chumbo das raízes para as os caules e folhas, os resultados de FT obtidos revelaram a pouca capacidade das culturas para este propósito, atendendo ao facto da maioria dos valores de FT serem bastante inferiores a um ( $<1$ ). A exceção a este comportamento ocorre nas folhas da *B. carinata*, onde chega a ser atingindo um valor máximo para FT de 3,46 no ensaio Pb 1, sendo que em Pb 2 este valor decresce para 1,97. Esta descida do FT provocada pelo aumento da contaminação do solo é verificada para todas as frações das duas culturas em estudo. A baixa capacidade da *T. arvense* em translocar o chumbo para as estruturas aéreas é comprovado pelo valor máximo de FT registado, o qual foi 0,41.

### 3.3. Impacto económico na produção de biodiesel

As análises à biomassa descritas anteriormente tiveram como objetivo avaliar a capacidade de adaptação e potencial efeito fitoremediador das duas culturas no solo contaminado com zinco ou chumbo. Neste ponto, pretendeu-se dar seguimento a estas análises numa vertente económica, estudando de que maneira a produção de *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense*, nestas condições, pode influenciar os custos de produção de biodiesel.

Para este fim, foi realizado um breve exercício económico recorrendo a dados de custo de produção de biodiesel e à relação das produtividades das vagens alcançadas nos ensaios contaminados (Zn 1, Zn 2, Pb 1, Pb 2) com os ensaios controlo.

Devido à escassez de estudos de viabilidade económica na produção de biodiesel a partir de sementes da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense*, não foi possível obter dados concretos dos custos de produção de um litro deste combustível, referentes a estas duas culturas. Desta forma, foi utilizado para esta análise um custo de produção a partir de uma outra cultura oleaginosa.

Assim, foi assumido um custo de produção de biodiesel a partir de óleo de colza nos Estados Unidos em 2014, sendo esse valor de 0,816 €/L (Wessler & Drabik, 2016), e considerando a produção de cerca de 2 t/ha de semente (Rondanini et al., 2012). Considerou-se que a produção de *B. carinata* é semelhante à da colza, mas considerou-se que a produtividade da *T. arvense* é de 1,42 t/ha (Isbell, 2009), ou seja apresentando uma produtividade em semente de apenas 71% da produção da *Brassica carinata*.

É considerado que as diferenças verificadas nas produtividades das vagens dos diversos ensaios contaminados relativamente ao controlo, afetam apenas o custo diretamente associado à produção da matéria prima. Por exemplo, uma menor produtividade implica um maior investimento nos recursos agrícolas (área agrícola, fertilizantes, água, entre outros) para conseguir produzir a mesma quantidade de biodiesel. Assim, é necessário estimar qual a percentagem do custo de produção de biodiesel (0,816 €/L) é referente ao processo agrícola.

Relativamente à produção de biodiesel, vários estudos indicam que a produção da matéria-prima constitui o principal fator económico a ter em conta, representando cerca de 65-80% do custo total (Basili & Rossi, 2018; Demirbas, 2009).

Assumindo esta informação, considerou-se que 65% do custo de produção de biodiesel corresponde ao custo do processo agrícola, ou seja, 0,530 €/L. Nesta fase, são considerados todos os custos relativos aos fertilizantes, combustíveis, maquinaria, água e eletricidade, cultivo e colheita das oleaginosas.

Uma parte dos custos agronômicos é referente à preparação do solo, com recurso a maquinaria, de forma a garantir uma melhor e mais uniforme distribuição das sementes. O custo desta técnica equivale a 21% do custo associado à fase agronómica. A aplicação de um herbicida pré-emergência é recomendável para a produção da oleaginosa em larga escala, representando um custo de 9% do total do processo agrícola. O custo da fertilização é equivalente a 27% do total desta fase. A sementeira e colheita apresentam custos associados de 18% e 24%, respetivamente (Basili & Rossi, 2018).

Estes custos verificam-se para o ensaio controlo da *B. carinata* e que irá sofrer alterações consoante as produtividades alcançadas nos restantes ensaios contaminados e nos ensaios com *T. arvense*. Os restantes 0,286 €/L referem-se a outros custos, os quais não sofrem alterações. São custos referentes à extração do óleo (13% do total), à refinação do óleo (8% do total), à sua transesterificação (13% do total), e armazenamento (1% do total). A extração do óleo e a separação entre as gorduras e proteínas é um processo essencial para a produção de biodiesel. A refinação permite a conversão do óleo vegetal no produto final. Para que este óleo vegetal possa ser utilizado em motores de combustão, têm de ser removidas algumas substâncias específicas, como as proteínas, resinas, aldeídos e cetonas. A presença de glicerina no óleo está associada a uma maior viscosidade, o que pode causar danos nas bombas e injetores, se usada diretamente nos motores. A solução passa então por reduzir a viscosidade, através da transformação dos triglicéridos presentes no óleo em ésteres metílicos pelo processo de transesterificação (Basili & Rossi, 2018).

De seguida, foram considerados os dados de produtividade obtidos para as vagens em cada uma das culturas, nos ensaios contaminados e de controlo. Deste modo, tornou-se possível determinar a percentagem da produtividade de vagens em cada ensaio contaminado relativamente à produtividade verificada no controlo.

Posteriormente, através da divisão do custo do processo agrícola (0,530 €/L) pelos resultados do procedimento anterior foi possível calcular o custo agrícola associado à produtividade de cada um dos ensaios de zinco ou chumbo.

Por fim, a soma destes custos agrícolas com os outros custos (0,286 €/L) permite estimar o custo total de produção de biodiesel a partir das vagens de cada ensaio contaminado, para as duas culturas em estudo.

Neste ponto são apresentados os resultados referentes a uma estimativa do custo de produção de biodiesel a partir utilização de *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense*, ambas cultivadas em solos contaminados com zinco ou chumbo (Figura 3.24).

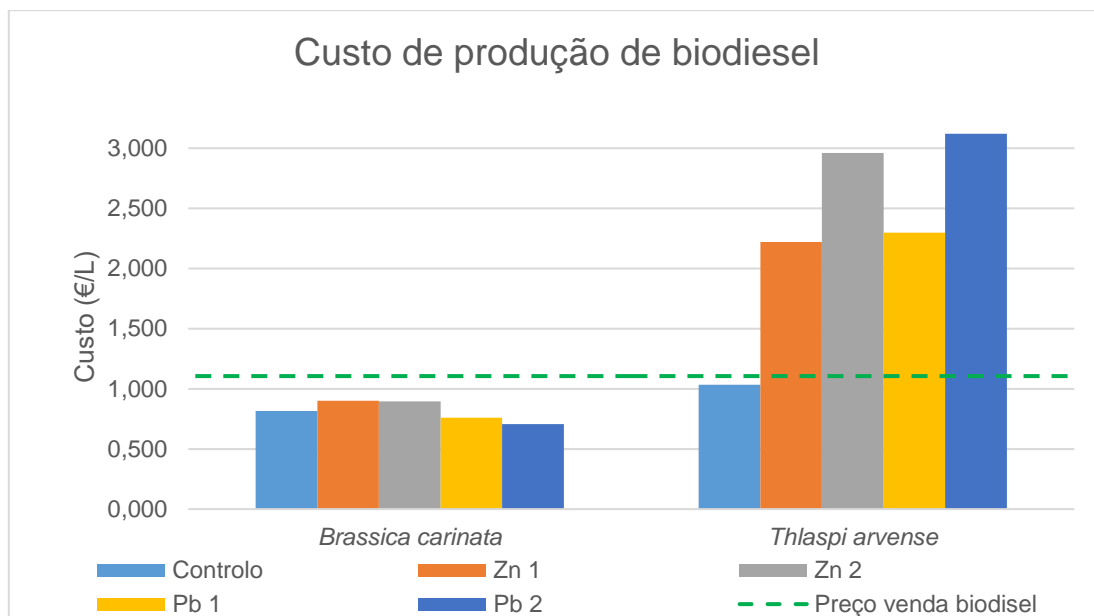
De acordo com o indicado anteriormente, o custo de produção de biodiesel para o ensaio controlo de *B. carinata* corresponde a 0,816 €/L, sendo este o ponto de partida para a análise dos valores atingidos

nos ensaios contaminados. Verificaram-se diferenças bastante assinaláveis entre culturas, com a *T. arvense* a apresentar custos significativamente mais elevados que os registados para a *B. carinata*, tal como era esperado, tendo em conta as diferenças observadas na produtividade das vagens obtidas e já discutidas.

Na *T. arvense*, os ensaios correspondentes ao maior nível de contaminação, Zn 2 e Pb 2, chegam a registar custos de produção de 2,961 €/L e 3,119 €/L, respetivamente. Quanto aos ensaios Zn 1 e Pb 1, também não foi possível obter custos inferiores a 2 €/L, apresentando cada um deles 2,220 €/L e 2,297 €/L. Tendo em conta os resultados apresentados pela *T. arvense*, é evidente que a contaminação dos solos com zinco ou chumbo afetou de forma objetiva o custo de produção de biodiesel, atingindo-se diferenças significativas em todos os ensaios relativamente ao controlo, sendo esta situação intensificada com o elevar da concentração de metais pesados no solo. Isto pode pôr em causa a sua potencial aplicação como matéria-prima para o biodiesel.

No que diz respeito à *B. carinata* o cenário é mais positivo. De facto, como já tinha sido discutido anteriormente, a produtividade das vagens na *B. carinata* não foi afetada pela presença de chumbo no solo, tendo-se verificado até rendimentos superiores. Desta forma, o custo de produção de biodiesel a partir de matéria-prima dos ensaios Pb 1 e Pb 2 demonstra ser inferior ao controlo, apresentando custos de 0,759 €/L e 0,705 €/L, respetivamente. No caso da contaminação com zinco, os ensaios apresentam custos de produção superiores. Em Zn 1 o custo é 0,901 €/L e em Zn 2 é 0,896 €/L.

Considerando que na venda, o preço de 1 L de biodiesel é de 1,1057 €/L (Basili & Rossi, 2018), toda a produção de *B. carinata*, mesmo a que é cultivada em solos contaminados, terá lucro. No caso da *T. arvense*, apenas a produção em solos controlo terá lucro. Como as produtividades desta oleaginosa em solos contaminados é muito reduzida, os custos ultrapassam os lucros quer nos solos contaminados com Zn, quer nos solos contaminados com Pb.



**Figura 3.24:** Custo de produção de biodiesel (€/L) a partir da *Brassica carinata* e *Thlaspi arvense* para cada nível de contaminação com zinco e chumbo





#### 4. Conclusões

O aproveitamento de terrenos marginais, nomeadamente de solos contaminados com metais pesados, para produção de culturas energéticas, pode permitir a diminuição das questões e conflitos relacionados com a utilização do solo, procurando-se atingir uma produção de energia em meios que em condições normais estariam desocupados. Além disto, a possibilidade de remediação do solo por parte de culturas com capacidade de remoção dos metais pesados constitui uma vantagem acrescida ao processo.

A produtividade das plantas e a sua capacidade de acumulação dos metais nos seus tecidos aéreos são condições essenciais para que se possa aplicar esta estratégia. Desta forma, é fundamental alargar o conhecimento sobre espécies com estas potencialidades, assim como das diferentes combinações de fatores que podem influenciar o seu rendimento.

Este estudo teve a finalidade perceber em que medida as duas culturas oleaginosas, *Thlaspi arvense* e *Brassica carinata*, cumprem alguns dos requisitos referidos para a sua produção em solos contaminados com zinco ou chumbo.

Relativamente aos parâmetros biométricos da *B. carinata*, a presença de zinco ou chumbo nos solos afetou a altura máxima atingida pelas plantas. No caso da *T. arvense* não se verificou diminuição de altura nas plantas, contudo ocorreram reduções significativas no número de vagens para todas as contaminações.

No que diz respeito aos resultados de produtividade, foram registadas maiores produtividades na *B. carinata* que na *T. arvense*, sendo que em ambas as culturas, os caules foram a fração que rendeu mais biomassa. Na *T. arvense*, ambos os metais provocaram reduções significativas na produtividade de todas as estruturas da planta, mostrando-se também sensível ao aumento da contaminação. No caso da *B. carinata*, as reduções de produtividade provocadas por ambos os metais, foram verificadas sobretudo nos caules. De facto, a contaminação dos solos não exerceu qualquer efeito na produtividade das folhas desta cultura, sendo que para as vagens e raízes apenas foram observadas ligeiras reduções nos ensaios com zinco, não se verificando qualquer afetação nas contaminações com chumbo.

Os dados obtidos para o índice de tolerância (IT), relativos à biomassa aérea das culturas, permitiram concluir que a *B. carinata* pode ser encarada como tolerante à contaminação com os metais pesados em estudo, especialmente para o chumbo, contrastando com a baixa tolerância exibida pela *T. arvense*.

A contaminação dos solos com os metais pesados em estudo provocou alguns efeitos na qualidade da biomassa das duas culturas, verificando-se o aumento do teor de cinzas. A introdução dos metais no solo originou uma maior disponibilidade destes elementos no meio, levando ao aumento da sua incorporação na biomassa e a uma diminuição da qualidade da mesma para fins energéticos. Foi também observável o aumento do teor de azoto, com exceção das folhas da *B. carinata*.

Os valores de índice de acumulação (IA) registados nos ensaios contaminados com zinco demonstraram que *T. arvense* e a *B. carinata* possuem uma boa capacidade para acumular zinco. No entanto,

verificou-se que a *B. carinata* apresentou uma maior aptidão para acumular o zinco nas frações aéreas, especialmente caules e folhas, enquanto a *T. arvense* manifestou maior capacidade acumuladora nas raízes. O facto da *B. carinata* apresentar um maior IA nas frações aéreas, assim como uma maior produtividade, faz com que esta cultura apresente um maior potencial de fitoextração que a *T. arvense*. Este potencial de fitoextração de zinco dos solos foi também demonstrado pela sua capacidade superior em translocar o zinco, como comprovam valores do fator de translocação (FT) obtidos.

Nos ensaios contaminados com chumbo, os valores de IA permitiram concluir que a *B. carinata* e a *T. arvense* apresentam uma baixa capacidade de acumular chumbo nas frações aéreas. Contudo, estas culturas exibiram capacidades de acumulação deste elemento nas suas raízes, sendo que a *T. arvense* se destaca neste aspeto, apresentando valores de IA bastante mais elevados. Relativamente à capacidade de translocar o chumbo para as frações aéreas, traduzida pelos valores de FT, as duas culturas apresentaram limitações, verificando-se assim uma baixa translocação deste metal.

Relativamente ao custo de produção de biodiesel a partir destas culturas, observaram-se comportamentos distintos. A contaminação com metais pesados influenciou negativamente o custo de obtenção de biodiesel associado à exploração da *T. arvense*, resultado das baixas produtividades das vagens alcançadas nestas condições. No caso da *B. carinata*, o mesmo não se verificou, apresentando custos semelhantes em solo contaminado e solo com presença de zinco ou chumbo.

## Referências

- Alemayehu, N., & Becker, H. (2002). Genotypic diversity and patterns of variation in a germplasm material of Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49(6), 573–582.
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere*, 91, 869–881.
- Alloway, B. J. (Ed.). (2013). *Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability* (3rd ed.). Springer Netherlands.
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis* (15th ed., Vol. 1). Arlington, EUA: Association of Official Analytical Chemists.
- Ashraf, S., Ali, Q., Zahir, Z. A., Ashraf, S., & Asghar, H. N. (2019). Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 714–727.
- Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2017). A new strategy for heavy metal polluted environments: A review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1).
- Baize, D. (2000). *Guide des analyses en pedologie*. (I. Editions, Ed.) (2nd ed.). Paris, França.
- Barbosa, B., Boléo, S., Sidella, S., Costa, J., Duarte, M. P., Mendes, B., ... Fernando, A. L. (2015). Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soils Using the Perennial Energy Crops *Miscanthus* spp. and *Arundo donax* L. *Bioenergy Research*, 8(4), 1500–1511.
- Barbosa, B., Costa, J., Boléo, S., Duarte, M. P., & Fernando, A. L. (2016). Phytoremediation of Inorganic Compounds. In A. B. Ribeiro, E. P. Mateus, & N. Couto (Eds.), *Electrokinetics Across Disciplines and Continents: New Strategies for Sustainable Development*. Springer, Cham.
- Barbosa, B., Costa, J., & Fernando, A. L. (2018). Production of Energy Crops in Heavy Metals Contaminated Land: Opportunities and Risks. In R. Li & A. Monti (Eds.), *Land Allocation for Biomass Crops* (pp. 83–102). Springer, Cham.
- Barbosa, B., & Fernando, A. L. (2018). Aided Phytostabilization of Mine Waste. In M. N. V. Prasad, P. J. C. Favas, & S. K. Maiti (Eds.), *Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation*. Elsevier.
- Basili, M., & Rossi, M. A. (2018). Brassica carinata-derived biodiesel production: economics, sustainability and policies. The Italian case. *Journal of Cleaner Production*, 191, 40–47.
- Best, K. F., & McIntyre, G. I. (1975). The biology of Canadian weeds. 9. *Thlaspi arvense* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 55(1), 279–292.
- Blanco-Canqui, H. (2016). Growing Dedicated Energy Crops on Marginal Lands and Ecosystem Services. *Soil Science Society of America Journal*, 80(4), 845–858.
- Boléo, S. M. T. (2011). *Environmental impact assessment of energy crops cultivation in the Mediterranean Europe*. Dissertação de Mestrado, FCT-UNL.
- Brevik, E. C., & Burgess, L. C. (Eds.). (2012). *SOILS HUMAN HEALTH*. CRC Press.
- Canam, T., Li, X., Holowachuk, J., Yu, M., Xia, J., Mandal, R., ... Gruber, M. Y. (2013). Differential metabolite profiles and salinity tolerance between two genetically related brown-seeded and yellow-seeded *Brassica carinata* lines. *Plant Science*, 198, 17–26.
- CFIA. (2019). The Biology of *Brassica carinata* (A.) Braun (Abyssinian cabbage). Retrieved February 18, 2019, from <http://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/biology-documents/brassica-carinata/eng/1501087371874/1501087468251>
- Cristaldi, A., Conti, G. O., Jho, E. H., Zuccarello, P., Grasso, A., Copat, C., & Ferrante, M. (2017). Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. *Environmental Technology and Innovation*, 8, 309–326.

- Dauber, J., Brown, C., Fernando, A. L., Finnan, J., Krasuska, E., Ponitka, J., ... Zah, R. (2012). Bioenergy from "surplus" land: Environmental and socio-economic implications. *BioRisk*, (7), 5–50.
- Demirbas, A. (2009). Political, economic and environmental impacts of biofuels: A review. *Applied Energy*, 86, S108–S117.
- Devi, I., Bhunia, B., Bhargavi, E., K. K. R., Tiwari, O. N., & Sardar, U. R. (2018). Advances in exopolysaccharides based bioremediation of heavy metals in soil and water: A critical review. *Carbohydrate Polymers*, 199, 353–364.
- Dixit, R., Wasiullah, Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U. B., Sahu, A., ... Paul, D. (2015). Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: An overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability*, 7, 2189–2212.
- Dorn, K. M., Johnson, E. B., Daniels, E., Wyse, D., & Marks, M. D. (2018). Spring flowering habit in field pennycress (*Thlaspi arvense*) has arisen multiple independent times. *Plant Direct*, 2, 1–10.
- El Bassam, N. (2010). *Handbook of Bioenergy crops - A complete reference to species, development and applications* (1st ed.). London, UK: Earthscan.
- Falk, K. C., Taylor, D. C., Smith, M., Marillia, E.-F., & Francis, T. (2014). Palliser's promise: Brassica carinata, An emerging western Canadian crop for delivery of new bio-industrial oil feedstocks. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3, 65–74.
- Fan, J., Shonnard, D. R., Kalnes, T. N., Johnsen, P. B., & Rao, S. (2013). A life cycle assessment of pennycress (*Thlaspi arvense* L.) -derived jet fuel and diesel. *Biomass and Bioenergy*, 55, 87–100.
- FAO. (2019). Crop Ecological Requirements Database (ECOCROP). Retrieved February 19, 2019, from <http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/cropView?id=3848>
- Fernando, A. L., Barbosa, B., Costa, J., & Papazoglou, E. G. (2016). Giant Reed (*Arundo donax* L.): A Multipurpose Crop Bridging Phytoremediation with Sustainable Bioeconomy. In M. N. V. Prasad (Ed.), *Bioremediation and Bioeconomy*. Elsevier.
- Fernando, A. L., & Godovikova, V. (2004). Miscanthus x giganteus: Contribution to a Sustainable Agriculture of a Future/Present – Oriented Biomaterial. *Materials Science Forum, Advanced Materials Forum II*, 455–456, 437–441.
- Fernando, A. L., Rettenmaier, N., Soldatos, P., & Panoutsou, C. (2018). Sustainability of Perennial Crops Production for Bioenergy and Bioproducts. In E. Alexopoulou (Ed.), *Perennial Grasses for Bioenergy and Bioproducts*. Academic Press.
- Getinet, A., Rakow, G., & Downey, R. K. (1996). Agronomic performance and seed quality of Ethiopian mustard in Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Science*, 76(3), 387–392.
- Gomes, L., Fernando, A. L., & Santos, F. (2018). A toolbox to tackle the technological and environmental constraints associated with the use of biomass for energy from marginal land. In *ECOS 2018 - Proceedings of the 31st International Conference on Efficiency, Cost, Optimization, Simulation and Environmental Impact of Energy Systems*.
- Holm, L., Herberger, J., Schmid, R., Doll, J., Holm, E., & Pancho, J. (1997). *World Weeds: Natural Histories and Distribution*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Isbell, T. A. (2009). US effort in the development of new crops (Lesquerella, Pennycress Coriander and Cuphea). *OCL*, 16, 205–210.
- ISO 11466. (1995). Soil Quality – Extraction of trace metals soluble in aqua regia.
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60–72.
- Jarup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68(1), 167–182.
- Jiang, W., Jacobson, M. G., & Langholtz, M. H. (2019). A sustainability framework for assessing studies about marginal lands for planting perennial energy crops. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*,

13(1), 228–240.

Kabata-Pendias, A. (2011). *Trace Elements in Soils and Plants* (4th ed.). CRC Press.

Kang, S., Post, W. M., Nichols, J. A., Wang, D., West, T. O., Bandaru, V., & Izaurrealde, R. C. (2013a). Marginal Lands: Concept, Assessment and Management. *Journal of Agricultural Science*, 5(5), 129–139.

Kang, S., Post, W., Wang, D., Nichols, J., Bandaru, V., & West, T. (2013b). Hierarchical marginal land assessment for land use planning. *Land Use Policy*, 30(1), 106–113.

Khalid, S., Shahid, M., Niazi, N. K., Murtaza, B., Bibi, I., & Dumat, C. (2017). A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 182, 247–268.

Kumar, A., & Prasad, M. N. V. (2018). Plant-lead interactions: Transport, toxicity, tolerance, and detoxification mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166, 401–418.

Kushwaha, A., Hans, N., Kumar, S., & Rani, R. (2018). A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 1035–1045.

Li, C., Zhou, K., Qin, W., Tian, C., Qi, M., Yan, X., & Han, W. (2019). A Review on Heavy Metals Contamination in Soil: Effects, Sources, and Remediation Techniques. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 28(4), 380–394.

Liu, L., Li, W., Song, W., & Guo, M. (2018). Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. *Science of the Total Environment*, 633, 206–219.

Lone, M. I., He, Z. L., Stoffella, P. J., & Yang, X. E. (2008). Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(3), 210–220.

Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M. K., Lahori, A. H., Wang, Q., ... Zhang, Z. (2016). Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126, 111–121.

McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 1): Overview of biomass. *Bioresource Technology*, 83(1), 37–46.

Mehmood, M. A., Ibrahim, M., Rashid, U., Nawaz, M., Ali, S., Hussain, A., & Gull, M. (2017). Biomass production for bioenergy using marginal lands. *Sustainable Production and Consumption*, 9(July 2016), 3–21.

Mekonnen, T. W. (2014). Phenotypic Variability of Ethiopian Mustard (*Brassica Carinata* A.Braun.) Genotypes in South Gondar, Ethiopia. *Advanced Research Journal of Plant and Animal Sciences*, 2(5), 42–48.

Mitich, L. W. (1996). Field Pennycress (*Thlaspi arvense* L.) – The Stinkweed. *Weed Technology*, 10(3), 675–678.

Mnzava, N. A., & Schippers, R. R. (2007). *Brassica carinata* A.Braun. In H. A. M. van der Vossen & G. S. Mkamilo (Eds.), *Plant Resources of Tropical Africa 14 - Vegetable Oils*. Wageningen, Netherlands: Backhuys Publishers.

Moser, B. R. (2012). Biodiesel from alternative oilseed feedstocks: Camelina and field pennycress. *Biofuels*, 3(2), 193–209.

Moser, B. R., Knothe, G., Vaughn, S. F., & Isbell, T. A. (2009a). Production and evaluation of biodiesel from field pennycress (*Thlaspi arvense* L.) oil. *Energy and Fuels*, 23(8), 4149–4155.

Moser, B. R., Shah, S. N., Winkler-Moser, J. K., Vaughn, S. F., & Evangelista, R. L. (2009b). Composition and physical properties of cress (*Lepidium sativum* L.) and field pennycress (*Thlaspi arvense* L.) oils. *Industrial Crops and Products*, 30(2), 199–205.

Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for

- plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199–216.
- Noulas, C., Tziouvalekas, M., & Karyotis, T. (2018). Zinc in soils, water and food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 49, 252–260.
- NP-84. (1965). Solos. Determinação do teor em água.
- Olsen, S. R. ., Cole, C. V. ., Watanabe, F. S. ., & Dean, L. A. (1954). *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. Washington D.C., EUA.
- Papazoglou, E. G., & Fernando, A. L. (2017). Preliminary studies on the growth, tolerance and phytoremediation ability of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) grown on heavy metal contaminated soil. *Industrial Crops and Products*, 107, 463–471.
- Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P., & Pinelli, E. (2011). Lead Uptake , Toxicity , and Detoxification in Plants Bertrand. In D. M. Whitacre (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (Vol. 213). Springer, New York, NY.
- Pulighe, G., Bonati, G., Colangeli, M., Morese, M. M., Traverso, L., Lupia, F., ... Fava, F. (2019). Ongoing and emerging issues for sustainable bioenergy production on marginal lands in the Mediterranean regions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 103, 58–70.
- Rahman, M., Khatun, A., Liu, L., & Barkla, B. J. (2018). Brassicaceae mustards: Traditional and agronomic uses in Australia and New Zealand. *Molecules*, 23.
- Rai, P. K., Lee, S. S., Zhang, M., Tsang, Y. F., & Kim, K. H. (2019). Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environment International*, 125, 365–385.
- Rondanini, D. P., Gomez, N. V., Agosti, M. B., & Miralles, D. J. (2012). Global trends of rapeseed grain yield stability and rapeseed-to-wheat yield ratio in the last four decades. *European Journal of Agronomy*, 37, 56–65.
- Ross, D. S. ., & Ketterings, Q. (2011). Recommended Methods for Determining Soil Cation Exchange Capacity – Chapter 9. *Recommended Soil Testing Procedures for the Northeastern United States. Cooperative Bulletin*, (493), 75–86.
- Schroers, J. O. (2006). *Towards the development of marginal land use depending on the framework of agricultural market, policy and production techniques*. Germany.
- Sedbrook, J. C., Phippen, W. B., & Marks, M. D. (2014). New approaches to facilitate rapid domestication of a wild plant to an oilseed crop: Example pennycress (*Thlaspi arvense* L.). *Plant Science*, 227, 122–132.
- Sherameti, I., & Varma, A. (Eds.). (2010). *Soil Heavy Metals*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy Metals Toxicity and the Environment. In Andreas Luch (Ed.), *Molecular, clinical and environmental toxicology*. Basel: Springer.
- Thomas, J. B., Hampton, M. E., Dorn, K. M., David Marks, M., & Carter, C. J. (2017). The pennycress (*Thlaspi arvense* L.) nectary: Structural and transcriptomic characterization. *BMC Plant Biology*, 17(1), 1–10.
- Tsang, Y. F., Kim, K.-H., Lee, S. S., Zhang, M., & Rai, P. K. (2019). Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environment International*, 125, 365–385.
- USDA. (2014). *Weed Risk Assessment for Brassica carinata A. Braun(Brassicaceae) – Ethiopian mustard*.
- Vandecasteele, C., & Block, C. B. (1993). *Modern Methods for Trace Element Determination*. Chichester: John Wiley & Sons.
- Walkley, A. ., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 29–38.
- Wang, F., Gao, J., & Zha, Y. (2018). Hyperspectral sensing of heavy metals in soil and vegetation:

- Feasibility and challenges. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 136, 73–84.
- Warwick, S. I., Francis, A., & Susko, D. J. (2002). The biology of Canadian weeds. 9. *Thlaspi arvense* L. (updated). *Canadian Journal of Plant Science*, 82(4), 803–823.
- Warwick, S. I., Gugel, R. K., McDonald, T., & Falk, K. C. (2006). Genetic variation of Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) germplasm in western Canada. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(2), 297–312.
- Watanabe, F. S., & Olsen, S. R. (1965). Test of an Ascorbic Acid Method for Determining Phosphorus in Water and NaHCO<sub>3</sub> Extracts from Soil. *Soil Science Society of America Journal*, 29, 677–678.
- Watts, S., & Halliwell, L. (1996). Appendix 3 - Detailed field and chemical methods for soil. In S. Watts & L. Halliwell (Eds.), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques* (pp. 475–505). London: Routledge.
- Wesseler, J., & Drabik, D. (2016). Prices matter: Analysis of food and energy competition relative to land resources in the European Union. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 77, 19–24.
- Wuana, R. A., & Okieimen, F. E. (2011). Heavy metals in contaminated soils: A review of sources, chemistry, risks, and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology*, 2011(Article ID 402647), 20.
- Yuan, Z., Ma, Z., Li, Z., Huang, L., & van der Kuip, T. J. (2014). A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment. *Science of The Total Environment*, 468–469, 843–853.